

Der Einfluss von hormonell wirksamen Umweltchemikalien auf die Populationsökologie von *Gammarus fossarum*

Dissertation

zur Erlangung des akademischen Grades

Doctor rerum naturalium (Dr. rer. nat.)

an der

Fakultät für Forst-, Geo- und Hydrowissenschaften

der Technischen Universität Dresden

vorgelegt von

Vanessa Ladewig

Gutachter:

Prof. Dr. R. Nagel

Prof. Dr. G. Vollmer

Prof. Dr. H.-R. Köhler

Dresden, im April 2004

Danksagung

An erster Stelle danke ich Prof. Dr. R. Nagel für die Betreuung der vorliegenden Arbeit. Seine Gelassenheit und konstruktive Kritik trugen zum Gelingen dieser Arbeit bei.

Ein herzliches Dankeschön der gesamten AG Ökotoxikologie, allen studentischen Hilfskräften (vor allem für die Mithilfe bei der Bestimmung der Gammariden) und unseren Kooperationspartnern des Projekts Xehogamm. Es fanden sich immer helfende Hände für die Probenahmen im Freiland (bei Sonne und Regen) sowie bei dem mit hohem Aufwand betriebenen Fließrinnenexperiment, das für eine einzelne Person nicht zu bewältigen gewesen wäre. Dr. A. Weyers steuerte Tipps zur statistischen Behandlung der Daten bei, dafür und für andere fruchtbare Fachdiskussionen danke ich ihm. Ein besonderes Dankeschön geht an Dr. D. Jungmann, der stets ein offenes Ohr für meine Fragen hatte und sie beantwortete.

Die Begegnungen und Diskussionen mit den Mitarbeitern und Mitarbeiterinnen am Institut for Biologi der NTNU Trondheim ließen meinen Aufenthalt in Norwegen zu einem bereichernden Erlebnis werden. Mein Dank gilt insbesondere meinem Supervisor Prof. Dr. K.E. Zachariassen und dem Koordinator der ENDOCLIMA Marie Curie Training Site, Prof. Dr. B.M. Jenssen.

Dank gebührt Dr. B. Sures (Universität Karlsruhe) für die Identifizierung der Acanthocephalen, Dr. R. Fleig (TU Dresden), der mich in die Welt der Rasterelektronenmikroskopie einführte, und Å. Wilhelmsen (Zoological Museum, Oslo) für die Bereitstellung historischer Proben von *G. lacustris*. Für die Beratung zur Statistik danke ich Dr. M. Rudolf (TU Dresden). Für interessante, fachliche E-Mail-Diskussionen danke ich A. Ford, Prof. Dr. P. Greenaway und Dr. M. Pöckl. Den Betreibern der Klärwerke Kreische und Möhringen sei dafür gedankt, dass Wasserproben aus dem jeweiligen Einleiter untersucht werden konnten und wichtige Informationen bezüglich der Abwasserbehandlung zur Verfügung gestellt wurden.

Schließlich danke ich meiner Mutter, die mich immer in allen Lebenslagen unterstützt hat.

Die vorliegende Arbeit wurde im Rahmen des Projekts Xehogamm durchgeführt, das vom Umweltbundesamt finanziell gefördert wurde (FKZ 299 65 221/05).

INHALTSVERZEICHNIS

I	EINLEITUNG	1
II	FREILANDUNTERSUCHUNGEN ZUR POPULATIONSÖKOLOGIE VON <i>GAMMARUS FOSSARUM</i>	5
II.1	Einleitung	5
II.2	Material und Methoden	6
II.2.1	Aufgabenverteilung im Projekt	6
II.2.2	Zur Biologie von <i>Gammarus fossarum</i>	6
II.2.3	Charakterisierung der Untersuchungsgewässer und Probenahmestellen	9
II.2.3.1	Lockwitzbach	9
II.2.3.1.1	Charakterisierung des Lockwitzbachs	9
II.2.3.1.2	Charakterisierung der Probenahmestellen	9
II.2.3.1.3	Charakterisierung des Klärwerks	11
II.2.3.2	Körsch	12
II.2.3.2.1	Charakterisierung der Körsch	12
II.2.3.2.2	Charakterisierung der Probenahmestellen	12
II.2.3.2.3	Charakterisierung des Klärwerks	13
II.2.4	Physikalisch-chemische Parameter	13
II.2.5	Analytik von östrogen wirksamen Umweltchemikalien im Wasser mittels GC/MS	14
II.2.6	Untersuchungen bei Gammariden	14
II.2.6.1	Nichtselektive Beprobung der Gammaridenpopulationen	14
II.2.6.2	Aufarbeitung der Proben im Labor	16
II.2.6.3	Subsampling großer Proben von Gammariden	17
II.2.6.4	Handfang brütender Weibchen	18
II.2.6.5	Aktives Effektmonitoring-Experiment im Lockwitzbach	19
II.2.6.6	Bestimmung populationsrelevanter Parameter bei den Gammariden	19
II.2.6.7	Rasterelektronenmikroskopie	22
II.2.6.8	Mathematisch-statistische Methoden	23
II.3	Ergebnisse und Diskussion	24
II.3.1	Ergebnisse der physikalisch-chemischen Untersuchungen	24

II.3.2	Ergebnisse der chemischen Analytik von Umweltchemikalien mit östrogenem oder vermutetem östrogenen Potenzial	27
II.3.3	Populationsuntersuchungen an Gammariden	30
II.3.3.1	Abundanz von Gammariden	30
II.3.3.1.1	Abundanzen von <i>G. fossarum</i> im Lockwitzbach	30
II.3.3.1.2	Abundanzen von Gammariden in der Körsch	34
II.3.3.1.3	Vergleich der Abundanz in beiden Bächen	35
II.3.3.2	Vorkommen von <i>Gammarus pulex</i>	37
II.3.3.2.1	Vorkommen von <i>G. pulex</i> im Lockwitzbach	37
II.3.3.2.2	Vorkommen von <i>G. pulex</i> in der Körsch	37
II.3.3.3	Geschlechterverhältnis und Intersexualität bei <i>G. fossarum</i>	39
II.3.3.3.1	Geschlechterverhältnis bei <i>G. fossarum</i> im Lockwitzbach	39
II.3.3.3.2	Geschlechterverhältnis bei <i>G. fossarum</i> in der Körsch	41
II.3.3.3.3	Vergleich des Geschlechterverhältnis in beiden Bächen	43
II.3.3.3.4	Intersexualität bei <i>G. fossarum</i>	44
II.3.3.4	Reproduktion	53
II.3.3.4.1	Anteil der Juvenilen in den Gammaridenpopulationen	53
II.3.3.4.1.1	Anteil der Juvenilen bei <i>G. fossarum</i> im Lockwitzbach	53
II.3.3.4.1.2	Anteil der Juvenilen in den Gammaridenpopulationen in der Körsch	56
II.3.3.4.1.3	Vergleich der Juvenilenanteile in beiden Bächen	57
II.3.3.4.2	Anteil brütender Weibchen bei <i>G. fossarum</i>	57
II.3.3.4.2.1	Anteil brütender Weibchen bei <i>G. fossarum</i> im Lockwitzbach	58
II.3.3.4.2.2	Anteil brütender Weibchen bei <i>G. fossarum</i> in der Körsch	60
II.3.3.4.2.3	Vergleich des Anteils brütender Weibchen in beiden Bächen	61
II.3.3.4.3	Reproduktionspause bei <i>G. fossarum</i>	62
II.3.3.4.3.1	Reproduktionspause bei <i>G. fossarum</i> im Lockwitzbach	62
II.3.3.4.3.2	Reproduktionspause bei <i>G. fossarum</i> in der Körsch	63
II.3.3.4.3.3	Vergleich des Beginns der Reproduktionspause in beiden Bächen	65
II.3.3.4.4	Fekunditätsindex per Handfang gesammelter brütender Weibchen von <i>G. fossarum</i>	65
II.3.3.5	Acanthocephalenbefall bei <i>G. fossarum</i>	69
II.3.3.5.1	Acanthocephalenbefall bei <i>G. fossarum</i> im Lockwitzbach	70
II.3.3.5.2	Acanthocephalenbefall bei Gammariden in der Körsch	70
II.3.3.5.3	Vergleich des Acanthocephalenbefalls in beiden Bächen	71
II.3.3.6	Körperlängen der Gammariden	72
II.3.3.6.1	Körperlängen bei <i>G. fossarum</i> im Lockwitzbach	72
II.3.3.6.2	Körperlängen bei Gammariden in der Körsch	77
II.3.3.6.3	Vergleich der Körperlängen bei Gammariden beider Bäche	81
II.4	Abschließende Betrachtung der Freilanduntersuchungen	82

III POPULATIONSENTERSUCHUNGEN MIT GAMMARUS FOSSARUM IM FLIESSRINNENEXPERIMENT	87
III.1 Einleitung	87
III.2 Material und Methoden	88
III.2.1 Aufgabenverteilung im Projekt	88
III.2.2 Fang von <i>G. fossarum</i>	88
III.2.3 Untersuchung zur Etablierung eines geeigneten Mediums (Hälterungsversuch)	89
III.2.3.1 Fütterung der Gammariden im Hälterungsversuch	90
III.2.4 Wirkung von Bisphenol A auf <i>G. fossarum</i>	91
III.2.4.1 Testsubstanz	91
III.2.4.2 Akute Toxizität von Bisphenol A für <i>G. fossarum</i>	93
III.2.4.2.1 Durchführung der akuten Toxizitätstests mit <i>G. fossarum</i>	93
III.2.4.2.2 Bestimmung der Bisphenol A-Konzentrationen in den akuten Toxizitätstests	94
III.2.4.3 Fließrinnenexperiment mit <i>G. fossarum</i>	94
III.2.4.3.1 Allgemeine Beschreibung des Versuchsaufbaues im Fließrinnenexperiment	94
III.2.4.3.2 Experimenteller Zeitplan	99
III.2.4.3.3 Physikalisch-chemische Messungen	100
III.2.4.3.4 Analytik und Applikation von Bisphenol A	100
III.2.4.3.5 Gammaridenpopulationen in den Fließrinnen	101
III.2.4.3.6 Untersuchungen in MTTs (<i>Multi Tube Traps</i>)	101
III.2.4.3.7 Untersuchungen der Gammariden in Expositionsgefäßen für biochemische/histologische Untersuchungen	102
III.2.4.3.8 Untersuchungen der F1-Generation aus den MTTs	102
III.2.4.3.9 Fütterung der Gammariden im Fließrinnenexperiment	102
III.2.4.3.9.1 Fütterung der Fließrinnenpopulationen	103
III.2.4.3.9.2 Fütterung der Gammariden in den MTTs	103
III.2.4.3.9.3 Fütterung der juvenilen Gammariden in den Expositionsgefäßen ..	103
III.2.4.3.10 Erfassung populationsrelevanter Parameter bei den fixierten Gammariden	103
III.2.4.4 Statistische Methoden	104
III.3 Ergebnisse und Diskussion	106
III.3.1 Untersuchung zur Etablierung eines geeigneten Mediums (Hälterungsversuch)	106
III.3.2 Wirkung von Bisphenol A	109
III.3.2.1 Akute Toxizität von Bisphenol A für <i>G. fossarum</i>	109

III.3.2.2	Fließbrinnenexperiment mit <i>G. fossarum</i>	113
III.3.2.2.1	Ergebnisse der physikalisch-chemischen Variablen im Wasser der Fließbrinnen	113
III.3.2.2.2	Analyse von Bisphenol A.....	116
III.3.2.2.3	Untersuchungen in MTTs (<i>Multi Tube Traps</i>).....	117
III.3.2.2.3.1	Überleben der adulten Gammariden (P-Generation)	117
III.3.2.2.3.2	Reproduktion.....	118
III.3.2.2.3.2.1	Präkopula.....	118
III.3.2.2.3.2.2	Brutanzahl	120
III.3.2.2.3.2.3	Brutentwicklungszeit.....	120
III.3.2.2.3.2.4	Anzahl der Nachkommen (F1-Generation).....	123
III.3.2.2.3.2.5	Anteil reproduzierender Weibchen	124
III.3.2.2.3.2.6	Brutgröße.....	126
III.3.2.2.4	Untersuchungen der F1-Generation aus den MTTs	131
III.3.2.2.4.1	Überleben der 1. Brut	131
III.3.2.2.4.2	Überleben der 2. Brut	133
III.3.2.2.4.3	Überleben der 3. Brut	133
III.3.2.2.4.4	Vergleich des Überlebens der Bruten aus den MTTs	135
III.3.2.2.5	Untersuchungen in Expositionsgefäßen für biochem./histologische Untersuchungen.....	135
III.3.2.2.5.1	Überleben der adulten Gammariden (P-Generation)	135
III.3.2.2.5.2	Abundanz der juvenilen Gammariden (F1-Generation).....	137
III.3.2.2.6	Populationen in den Fließbrinnen	138
III.3.2.2.6.1	Abundanzen.....	138
III.3.2.2.6.2	Geschlechterverhältnis	139
III.3.2.2.6.3	Anteil brütender Weibchen	140
III.3.2.2.6.4	Eizahlen und Fekunditätsindex	140
III.3.2.2.6.5	Anteil der Juvenilen	141
III.3.2.2.6.6	Körperlängen.....	142
III.3.2.2.6.7	Drift	145
III.3.2.2.6.8	Bedingungen in der Kontrolle K-15.....	147
III.3.2.3	Abschließende Betrachtung zum Einfluss von Bisphenol A auf <i>G. fossarum</i> im Fließbrinnenexperiment	148
III.3.2.3.1	Betrachtung der Ergebnisse ohne Ausschluss der Fließrinne 5	148
III.3.2.3.2	Betrachtung der Ergebnisse bei Ausschluss der Fließrinne 5	150
III.3.3	Fließbrinnenexperiment zum Einfluss der Wassertemperatur auf <i>G. fossarum</i>	151
III.3.3.1	Ergebnisse der physikalisch-chemischen Variablen im Wasser der Fließbrinnen	151

III.3.3.2	Untersuchungen in MTTs (<i>Multi Tube Traps</i>).....	151
III.3.3.2.1	Überleben der adulten Gammariden (P-Generation)	151
III.3.3.2.2	Reproduktion.....	152
III.3.3.2.2.1	Präkopula.....	152
III.3.3.2.2.2	Brutanzahl	153
III.3.3.2.2.3	Brutentwicklungszeit.....	153
III.3.3.2.2.4	Anzahl der Nachkommen.....	155
III.3.3.2.2.4.1	Anteil reproduzierender Weibchen	155
III.3.3.2.2.4.2	Brutgröße.....	156
III.3.3.3	Untersuchungen der F1-Generation aus den MTTs	157
III.3.3.3.1	Überleben der 1. Brut	157
III.3.3.3.2	Überleben der 2. Brut	158
III.3.3.3.3	Überleben der 3. Brut	159
III.3.3.4	Untersuchungen in Expositionsgefäßen für biochem./histologische Untersuchungen	160
III.3.3.4.1	Überleben der adulten Gammariden (P-Generation)	160
III.3.3.4.2	Abundanz der juvenilen Gammariden (F1-Generation).....	161
III.3.3.5	Populationen in den Fließbrinnen	161
III.3.3.5.1	Abundanzen.....	161
III.3.3.5.2	Drift	162
III.3.3.6	Abschließende Betrachtung zum Einfluss der Wassertemperatur auf <i>G. fossarum</i> im Fließbrinnenexperiment	163

IV EINFLUSS VON BISPHENOL A AUF DIE OSMOREGULATION VON *GAMMARUS LACUSTRIS*164

IV.1 Einleitung 164

IV.2 Material und Methoden 165

IV.2.1	Charakterisierung von <i>G. lacustris</i>	165
IV.2.2	Fang und Hälterung von <i>G. lacustris</i>	165
IV.2.3	Wirkung von Bisphenol A auf <i>G. lacustris</i>	166
IV.2.3.1	Herstellung der Bisphenol A-Stammlösung.....	166
IV.2.3.2	Durchführung des akuten Toxizitätstests mit <i>G. lacustris</i>	166
IV.2.3.3	Experiment zum Einfluss von Bisphenol A auf die Osmoregulation bei <i>G. lacustris</i>	166
IV.2.3.3.1	Exposition von <i>G. lacustris</i> gegenüber Bisphenol A.....	166
IV.2.3.3.2	Bestimmung der Mortalität	167
IV.2.3.3.3	Entnahme und Behandlung der Hämolymphe	167
IV.2.3.3.4	Bestimmung der Osmolalität in der Hämolymphe	167

IV.2.3.3.5	Bestimmung der Natriumkonzentration in der Hämolymphe.....	168
IV.2.3.3.6	Bestimmung der Calciumkonzentration in der Hämolymphe.....	168
IV.2.3.3.7	Geschlechtsbestimmung bei <i>G. lacustris</i>	169
IV.2.4	Statistische Methoden	169
IV.3	Ergebnisse und Diskussion	171
IV.3.1	Akute Toxizität von Bisphenol A für <i>G. lacustris</i>	171
IV.3.2	Experiment zum Einfluss von Bisphenol A auf die Osmoregulation bei <i>G. lacustris</i>	172
IV.3.2.1	Mortalität.....	172
IV.3.2.2	Osmolalität in der Hämolymphe	173
IV.3.2.3	Konzentration von Natrium in der Hämolymphe.....	175
IV.3.2.4	Konzentration von Calcium in der Hämolymphe	179
IV.3.2.5	Hämolympheproben mit weißem Niederschlag nach der Zentrifugation....	182
IV.4	Abschließende Betrachtung der Untersuchungen zum Einfluss von Bisphenol A auf die Osmoregulation bei <i>G. lacustris</i>	185
V	ZUSAMMENFASSUNG	186
VI	LITERATURVERZEICHNIS	189

TABELLENVERZEICHNIS

Tab. 1: Aufgabenverteilung bei den Freilanduntersuchungen im Projekt Xehogamm.....	6
Tab. 2: Probenahmeterminale für die Untersuchungen der Struktur und Dynamik von Gammaridenpopulationen in Lockwitzbach und Körsch.....	15
Tab. 3: Probenahmeterminale des Handfangs brütender Weibchen in der Körsch.	19
Tab. 4: Ausgewählte physikalisch-chemische Parameter des Wassers an den Probenahmestellen von Lockwitzbach und Körsch über den gesamten Untersuchungszeitraum der Jahre 2000 und 2001.	24
Tab. 5: Analytierte Substanzen mit östrogenener oder vermuteter östrogenener Wirksamkeit im Untersuchungszeitraum des Jahres 2001.....	28
Tab. 6: Östrogenäquivalente für die Probenahmestellen in 2001.	30
Tab. 7: Probengröße und Abundanz der untersuchten Gammaridenpopulationen im Lockwitzbach.	31
Tab. 8: Probengröße und Abundanz der untersuchten Gammaridenpopulationen in der Körsch.	34
Tab. 9: Individuen von <i>G. fossarum</i> mit 1 Penisapille.....	46
Tab. 10: Anzahl der Eier im Marsupium brütender Weibchen von <i>G. fossarum</i> in der Körsch in den Jahren 2000 und 2001.....	66
Tab. 11: Prozentualer Anteil mit Acanthocephalen infizierter adulter <i>G. fossarum</i> im Lockwitzbach im Jahr 2001.	70
Tab. 12: Prozentualer Anteil mit Acanthocephalen infizierter Gammariden (Juvenile ab 5 mm Körperlänge und adulte <i>G. fossarum</i>) in Proben von der unteren Probenahmestelle an der Körsch (Ku) in den Jahren 2000 und 2001.	71
Tab. 13: Vergleich der Körperlängen bei <i>G. fossarum</i> im Lockwitzbach in den einzelnen Monaten.....	76
Tab. 14: Vergleich der Körperlängen bei juvenilen Gammariden und adoleszenten und adulten <i>G. fossarum</i> in der Körsch in den einzelnen Monaten.	80
Tab. 15: Aufgabenverteilung beim Fließbrinnenexperiment im Projekt Xehogamm.....	88
Tab. 16: Literaturwerte zum subletalen Einfluss von Bisphenol A auf Crustaceen.....	93
Tab. 17: Zeitlicher Ablauf des Fließbrinnenexperiments.....	100
Tab. 18: Abundanzen von <i>G. fossarum</i> im Hälterungsversuch nach 4 Wochen Versuchsdauer.	106
Tab. 19: Abundanzen von <i>G. fossarum</i> in den 3 weitergeführten Ansätzen im Verlauf des Hälterungsversuchs.	107
Tab. 20: Bisphenol A-Konzentrationen im akuten Toxizitätstest mit <i>G. fossarum</i>	109

Tab. 21: Anzahl der Gammariden ohne Fluchtreaktion (Immobilisation) im akuten Toxizitätstest mit Bisphenol A.	109
Tab. 22: Anzahl der Gammariden ohne Pleopodenschlag im akuten Toxizitätstest mit Bisphenol A.	110
Tab. 23: Akute Toxizität von Bisphenol A für juvenile und adulte <i>G. fossarum</i> unter Verwendung des Endpunkts Immobilisation.	111
Tab. 24: Akute Toxizität von Bisphenol A für juvenile und adulte <i>G. fossarum</i> unter Verwendung des Endpunkts „kein Pleopodenschlag“.	111
Tab. 25: Physikalisch-chemische Variablen im Wasser der Fließbrinnen.	114
Tab. 26: Vergleich der Nominal- und Effektivkonzentrationen von Bisphenol A im Fließbrinnenexperiment.	117
Tab. 27: Anzahl der aus dem Marsupium der Weibchen entlassenen Nachkommen pro Brut in den MTTs der Fließbrinnen.	123
Tab. 28: Anzahl an reproduzierenden und theoretisch zur Reproduktion fähigen Weibchen in den MTTs der Fließbrinnen.	125
Tab. 29: Prozentualer Anteil der reproduzierenden Weibchen an der Anzahl aller theoretisch reproduzierfähigen Weibchen pro Brut in den MTTs der Fließbrinnen.	125
Tab. 30: Fekunditätsindex F_i (juv) für die 4. Brut in den MTTs in den Fließbrinnen.	130
Tab. 31: Körperlänge, Eizahlen und Fekunditätsindex der brütenden Weibchen bei Versuchsende in den MTTs der Fließbrinnen.	131
Tab. 32: Abundanzen von <i>G. fossarum</i> in den Populationen der Fließbrinnen bei Versuchsende.	138
Tab. 33: Überleben der P-Generation (M- und L-Tiere) in den Gammaridenpopulationen in den Fließbrinnen bei Versuchsende.	138
Tab. 34: Anzahl der aus dem Marsupium der Weibchen entlassenen Nachkommen pro Brut in den MTTs der beiden Fließbrinnen mit unterschiedlicher Wassertemperatur.	155
Tab. 35: Anzahl der Gammariden ohne Fluchtreaktion (Immobilisation) im akuten Toxizitätstest mit Bisphenol A.	171
Tab. 36: Mortalität (Immobilisation) von <i>G. lacustris</i> im Osmoregulationsexperiment in der höchsten Konzentration von Bisphenol A.	172

ABBILDUNGSVERZEICHNIS

Abb. 1: <i>Gammarus fossarum</i> Koch, 1835.....	7
Abb. 2: a) Probenahmestelle oberhalb und b) unterhalb des Einleiters beim Lockwitzbach...	10
Abb. 3: Der Einleiter des Klärwerks Kreischa am Lockwitzbach	11
Abb. 4: a) Probenahmestelle oberhalb und b) unterhalb des Einleiters bei der Körsch.....	13
Abb. 5: Skizze und Foto eines MOS-Samplers.....	16
Abb. 6: Schematische Zeichnung des Sample-Splitters.....	18
Abb. 7: Unterschiede zwischen <i>G. fossarum</i> und <i>G. pulex</i> (Männchen)	20
Abb. 8: Sekundäre äußere Geschlechtsmerkmale von <i>G. fossarum</i>	21
Abb. 9: Längenmessung der Gammariden.....	22
Abb. 10: Temperatur des Wassers an den Probenahmestellen.....	25
Abb. 11: Phosphatkonzentration im Wasser an den Probenahmestellen	26
Abb. 12: Konzentration von Bisphenol A im Wasser der Probenahmestellen im Untersuchungsjahr 2001	29
Abb. 13: Abundanzen von juvenilen und adulten <i>G. fossarum</i> im Lockwitzbach in den Jahren 2000 und 2001	33
Abb. 14: Abundanzen von juvenilen und adulten Gammariden in der Körsch in den Jahren 2000 und 2001	36
Abb. 15: Anteil der <i>G. pulex</i> -Männchen in der Körsch in den Jahren 2000 und 2001	38
Abb. 16: Geschlechterverhältnis bei <i>G. fossarum</i> im Lockwitzbach im Jahr 2000	39
Abb. 17: Geschlechterverhältnis bei <i>G. fossarum</i> im Lockwitzbach im Jahr 2001	41
Abb. 18: Geschlechterverhältnis bei <i>G. fossarum</i> in der Körsch im Jahr 2000	42
Abb. 19: Geschlechterverhältnis bei <i>G. fossarum</i> in der Körsch im Jahr 2001	43
Abb. 20: Rasterelektronenmikroskopische Aufnahme eines Intersex von <i>Gammarus fossarum</i>	44
Abb. 21: Körperlänge bei unterschiedlichen Geschlechtern von <i>G. fossarum</i> im Lockwitzbach (gepoolte Daten).....	47
Abb. 22: Körperlänge bei unterschiedlichen Geschlechtern von <i>G. fossarum</i> im aktiven Effektmonitoring-Experiment im Lockwitzbach nach 12 und 16 Wochen Exposition ...	48
Abb. 23: Zunahme der Körperlänge bei verschiedenen Geschlechtern von <i>G. fossarum</i> im aktiven Effektmonitoring-Experiment im Lockwitzbach	49
Abb. 24: Anteil der Juvenilen bei <i>G. fossarum</i> im Lockwitzbach in den Jahren 2000 und 2001	54
Abb. 25: Anteil der Juvenilen in den Gammaridenpopulationen in der Körsch in den Jahren 2000 und 2001	56
Abb. 26: Anteil brütender Weibchen bei <i>G. fossarum</i> im Lockwitzbach in den Jahren 2000 und 2001	59

Abb. 27: Anteil brütender Weibchen bei <i>G. fossarum</i> in der Körsch in den Jahren 2000 und 2001.....	61
Abb. 28: Temperatur in der Körsch zwischen August und Oktober in beiden Untersuchungsjahren.....	64
Abb. 29: Fekunditätsindex brütender <i>G. fossarum</i> -Weibchen in der Körsch a) in 2000 und b) in 2001 sowie Mittelwert der Wassertemperatur aus 3 Vormonaten pro Probe	68
Abb. 30: Körperlänge juveniler <i>G. fossarum</i> im Lockwitzbach in den Jahren 2000 und 2001	73
Abb. 31: Körperlänge der unterschiedlichen Geschlechter bei <i>G. fossarum</i> im Lockwitzbach in den Jahren 2000 und 2001.....	74
Abb. 32: Körperlänge der brütenden Weibchen bei <i>G. fossarum</i> im Lockwitzbach in den Jahren 2000 und 2001	75
Abb. 33: Körperlänge juveniler Gammariden in der Körsch in den Jahren 2000 und 2001....	77
Abb. 34: Körperlänge der Männchen, Weibchen sowie der brütenden Weibchen bei <i>G. fossarum</i> in der Körsch in den Jahren 2000 und 2001	79
Abb. 35: Chemische Strukturformel und ausgewählte Eigenschaften von Bisphenol A.....	91
Abb. 36: Verwendete Fließbrinnen im Gewächshaus.....	94
Abb. 37: Schematische Darstellung der Verteilung des Sedimentes	95
Abb. 38: <i>Multi Tube Trap</i> (MTT)	96
Abb. 39: Expositionsgefäß für biochemische/histologische Untersuchungen bei <i>G. fossarum</i> sowie für die F1-Generation aus den MTTs.....	97
Abb. 40: Experimenteller Aufbau in einer Fließrinne während des Experimentes mit Bisphenol A.....	98
Abb. 41: Schematische Darstellung der Anordnung der Fließbrinnen im Gewächshaus (Aufsicht)	99
Abb. 42: Populationsentwicklung von <i>G. fossarum</i> über 16 Wochen im Hälterungsversuch.	108
Abb. 43: Konzentrations-Wirkungs-Kurve des letalen Effekts von Bisphenol A nach 96 h Exposition a) auf den Endpunkt Immobilisation und b) auf den Endpunkt „kein Pleopodenschlag“ bei adulten <i>G. fossarum</i>	112
Abb. 44: Zeitlicher Verlauf der Temperatur im Wasser der Fließbrinnen.....	115
Abb. 45: Zeitlicher Verlauf der Nitrit-N-Konzentration im Wasser der Fließbrinnen.	116
Abb. 46: Überlebenskurven der adulten <i>G. fossarum</i> (P-Generation) in den MTTs der Fließbrinnen	118
Abb. 47: Anteil der Gammaridenpaare in Präkopula pro MTT in den Fließbrinnen.....	119
Abb. 48: Brutentwicklungszeit für die a) 2. Brut, b) 3. Brut und c) 4. Brut in den MTTs der Fließbrinnen	122
Abb. 49: Beziehung zwischen der Brutentwicklungszeit (Mediane) und der Wassertemperatur (Mediane) für die 2. Brut in den MTTs der Fließbrinnen	123

Abb. 50: Konzentrations-Wirkungs-Kurve des Effekts von Bisphenol A auf den Anteil der reproduzierenden Weibchen für die 4. Brut in den MTTs der Fließbrinnen, basierend auf Effektivkonzentrationen	126
Abb. 51: Brutgröße der a) 1. Brut, b) 2. Brut und c) 3. Brut in den MTTs der Fließbrinnen ..	127
Abb. 52: Brutgröße der 4. Brut in den MTTs der Fließbrinnen	128
Abb. 53: Brutgrößen in den 4 aufeinanderfolgenden Bruten im MTT der Fließrinne 500....	129
Abb. 54: Konzentrations-Wirkungs-Kurve des Effekts von Bisphenol A auf die Brutgröße der 4. Brut in den MTTs der Fließbrinnen, basierend auf Effektivkonzentrationen	130
Abb. 55: Überleben der 1. Brut aus den MTTs in den Fließbrinnen.....	132
Abb. 56: Überleben der 2. Brut aus den MTTs in den Fließbrinnen.....	133
Abb. 57: Überleben der 3. Brut aus den MTTs in den Fließbrinnen.....	134
Abb. 58: Überleben der Adulten im MTT und in den Expositionsgefäßen (Expo) für biochem./histologische Untersuchungen in den Fließbrinnen	136
Abb. 59: Abundanz der juvenilen <i>G. fossarum</i> in den Expositionsgefäßen für biochem./histologische Untersuchungen in den Fließbrinnen	137
Abb. 60: Geschlechterverhältnis in den Gammaridenpopulationen in den Fließbrinnen bei Versuchsende sowie im Subsample von t_2 (entspricht Startpopulation).....	139
Abb. 61: Anteil brütender Weibchen in den Gammaridenpopulationen der Fließbrinnen bei Versuchsende	140
Abb. 62: Fekunditätsindex bei brütenden Weibchen aus den Gammaridenpopulationen in den Fließbrinnen bei Versuchsende	141
Abb. 63: Anteil der Juvenilen in den Gammaridenpopulationen der Fließbrinnen bei Versuchsende	142
Abb. 64: Körperlängenverteilung in der Startpopulation (t_2 -Subsample) sowie den Gammaridenpopulationen in den Fließbrinnen bei Versuchsende	143
Abb. 65: Körperlänge von a) Juvenilen, b) Männchen und c) Weibchen in den Gammaridenpopulationen der Fließbrinnen bei Versuchsende	144
Abb. 66: Drift von Gammariden aus den Populationen in den Fließbrinnen.....	146
Abb. 67: Überleben der adulten <i>G. fossarum</i> in den MTTs (MTT) und Expositionsgefäßen (Expo) der beiden Fließbrinnen mit unterschiedlicher Wassertemperatur.....	152
Abb. 68: Anteil der Gammaridenpaare in Präkopula pro MTT in den beiden Fließbrinnen mit unterschiedlicher Wassertemperatur	153
Abb. 69: Brutentwicklungszeit für die a) 2. Brut und b) 3. Brut in den MTTs der beiden Fließbrinnen mit unterschiedlicher Wassertemperatur	154
Abb. 70: Brutgröße der a) 1. Brut, b) 2. Brut und c) 3. Brut in den MTTs der beiden Fließbrinnen mit unterschiedlicher Wassertemperatur	156
Abb. 71: Überleben der 1. Brut aus den MTTs der beiden Fließbrinnen mit unterschiedlicher Wassertemperatur.....	158

Abb. 72: Überleben der 2. Brut aus den MTTs der beiden Fließrinnen mit unterschiedlicher Wassertemperatur.....	159
Abb. 73: Überleben der 3. Brut aus den MTTs der beiden Fließrinnen mit unterschiedlicher Wassertemperatur.....	160
Abb. 74: Abundanz der juvenilen <i>G. fossarum</i> in den Expositionsgefäßen für biochem. /histologische Untersuchungen	161
Abb. 75: Drift von <i>G. fossarum</i> in den Fließrinnen mit unterschiedlicher Wassertemperatur	162
Abb. 76: Konzentrations-Wirkungs-Kurve des letalen Effekts von Bisphenol A nach 96 h Exposition auf den Endpunkt Immobilisation bei adulten <i>G. lacustris</i>	172
Abb. 77: Osmolalität in der Hämolymphe von <i>G. lacustris</i> bei unterschiedlicher Expositionsdauer und Konzentration von Bisphenol A	173
Abb. 78: Zeitlicher Verlauf der Osmolalität in der Hämolymphe von <i>G. lacustris</i> bei Exposition gegenüber Bisphenol A.....	174
Abb. 79: Osmolalität in der Hämolymphe gesamt und in den unterschiedlichen Geschlechtern von <i>G. lacustris</i> bei unterschiedlicher Expositionsdauer gegenüber Bisphenol A	175
Abb. 80: Korrelation zwischen Natriumkonzentration und Osmolalität in allen Hämolympheproben von <i>G. lacustris</i>	176
Abb. 81: Konzentration von Natrium in der Hämolymphe gesamt sowie in den unterschiedlichen Geschlechtern von <i>G. lacustris</i> bei unterschiedlicher Expositionsdauer und Konzentration von Bisphenol A	177
Abb. 82: Zeitlicher Verlauf der Natriumkonzentration in der Hämolymphe von <i>G. lacustris</i> bei Exposition gegenüber Bisphenol A.....	178
Abb. 83: Konzentration von Calcium in der Hämolymphe von <i>G. lacustris</i> bei unterschiedlicher Expositionsdauer und Konzentration von Bisphenol A.....	179
Abb. 84: Zeitlicher Verlauf der Calciumkonzentration in der Hämolymphe von <i>G. lacustris</i> bei Exposition gegenüber Bisphenol A.....	180
Abb. 85: Osmolalität in milchig-blauer und blauer (normaler) Hämolymphe von <i>G. lacustris</i> , betrachtet über alle Proben.....	182

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

AAS	Atomabsorptionspektrometer
BCF	Bioconcentration factor
CAS	Chemical Abstract Service (-Number)
DDD	Dichlordiphenyldichlorethan
DDE	Dichlordiphenyldichlorethylen
DDT	Dichlordiphenyltrichlorethan
EC ₁₀ /EC ₅₀	„effect concentration“ - die Konzentration einer Chemikalie, bei der ein Effekt von 10 % bzw. 50 % auftritt
EWG	Einwohnergleichwerte
FPOM	Feinpartikuläres organisches Material
GC/MS	Gaschromatographie kombiniert mit Massenspektroskopie
HPLC	High Performance Liquid Chromatography
hsp70/90	Hitzeschockprotein 70 bzw. 90
HCH	Hexachlorcyclohexan
Ko/Ku	Probenahmestelle oberhalb bzw. unterhalb des Klärwerkseinleiters bei der Körsch
LC ₅₀	mittlere „lethal concentration“ - die Konzentration einer Chemikalie, bei der 50 % der exponierten Tiere sterben
Lo/Lu	Probenahmestelle oberhalb bzw. unterhalb des Klärwerkseinleiters beim Lockwitzbach
MP2	Millipore 2 (Reinstwasser, völlig entionisiert)
MTT	Multi Tube Trap
OC	Osmoregulatory capacity
PCB	Polychlorierte Biphenyle
PE	Polyethylen
TBT	Tributylzinn
TBTO	Tributylzinnoxid
V2A	Edelstahlart

I EINLEITUNG

Seit Anfang der 90er Jahre besteht ein großes öffentliches Interesse an möglichen Wirkungen von Umweltchemikalien auf den Hormonhaushalt von Organismen (endokrine Disruption) (Colborn et al., 1993; Vos et al., 2000). Unter anderem wurden epidemiologische Studien zu sinkenden Spermienzahlen (Carlsen et al., 1992; Sharpe & Skakkebaek, 1993; Auger et al., 1995; Irvine et al., 1996; Lerchl & Nieschlag, 1996), zur Zunahme von Hoden- und Brustkrebs sowie zu makroskopischen Veränderungen von Geschlechtsorganen (Thierfelder et al., 1995; Schlumpf & Lichtensteiger, 1996; Harrison et al., 1997; Bianca et al., 2003; Saiyed et al., 2003) beim Menschen mit Umweltbelastungen in Verbindung gebracht. Ob tatsächlich ein Kausalzusammenhang besteht, kann noch nicht abgeschätzt werden (Matthiessen, 2000; Eertmans et al., 2003; Sharpe, 2003; Sharpe & Skakkebaek, 2003; Sharpe & Irvine, 2004).

Als Umweltchemikalien werden Substanzen bezeichnet, die ohne menschliches Zutun in der Umwelt nicht oder nicht in so hoher Konzentration vorkommen (UBA, 1988, zitiert in Nagel, 1988).

Ein endokriner Disruptor ist ein exogener Stoff, der die Funktion des einheitlichen Konzeptes hormoneller Wirkung in einem Organismus oder seiner Nachkommen in einem Ausmaß verändert, dass die Grenzen homöostatischer Kontrolle überschritten werden. Alle anderen Fälle einer Hormonveränderung durch einen Stoff werden mit dem Begriff endokriner Modulator bezeichnet. Ein potenzieller endokriner Disruptor ist eine Substanz, die Eigenschaften zeigt, die möglicherweise in einem intakten Organismus zu einer endokrinen Fehlfunktion führen (European Commission, 1997).

Als endokrine oder potenziell endokrine Disruptoren werden derzeit neben natürlich vorkommenden Phytoöstrogenen, synthetische Östrogene (aus Kontrazeptiva) und zahlreiche nichtsteroide Umweltchemikalien diskutiert. Hierzu zählen u.a. Chlororganika, (z.B. DDT, PCB, Lindan, Toxaphen), Triazine (z.B. Atrazin), *p*-Alkylphenole (z.B. Nonylphenol), Bisphenol A, Phthalate und Organozinnverbindungen (TBT) (Schäfer et al., 1996; Gies, 1997; Müller, 1997).

Eine Änderung im Hormonhaushalt durch einen endokrinen Disruptor kann durch eine Störung der Synthese, der Sekretion, des Transports, der Bindung an Rezeptoren, der Wirkungsweise oder der Elimination von endogenen Hormonen im Körper hervorgerufen werden. Die meisten Studien beschäftigten sich bisher mit östrogen wirksamen Substanzen. Untersucht wird jedoch auch die Wirkung von Antiöstrogenen, (Anti-) Androgenen, thyroidhormonähnlichen Chemikalien sowie bei Arthropoden die Wirkung von Agonisten und

Antagonisten des Ecdysteroidrezeptors und Juvenilhormonanaloga.

Für verschiedene Vertebraten sind Phänomene wie z.B. Verweiblichung der Männchen, Bildung von Intersexen, Verringerung der Fruchtbarkeit oder Änderungen des Sexualverhaltens in belasteten Lebensräumen beschrieben (Guillette & Guillette, 1996; Colburn & Thayer, 2000). Beispielsweise traten bei jungen männlichen Alligatoren verringerte Testosteronplasmaspiegel, verkümmerte Penisse und Intersexbildung durch Kontamination des Lake Apopka (Florida) mit DDT und anderen Pestiziden auf (Guillette & Guillette, 1996; Crain et al., 1998). Auch bei Invertebraten kann die komplexe hormonelle Regulation in vielfältiger Weise durch endokrin wirksame Substanzen gestört werden. Dies zeigen die durch TBT und andere Organozinnverbindungen verursachten Inter- und Imposex-Phänomene bei Vorderkiemerschnecken, die zu Populationseinbrüchen dieser Tiere führten (Bright & Ellis, 1990; Bettin et al., 1996; Oehlmann et al., 1996 und 1998). Die androgene Wirkung von Organozinnverbindungen beruht bei Vorderkiemerschnecken auf der Hemmung der Cytochrom P 450-abhängigen Aromatase (Matthiessen & Gibbs, 1998). Dieses Enzym ist für die Umwandlung von Androstendion in Östron bzw. von Testosteron in 17 β -Östradiol verantwortlich. Für Crustaceen haben beispielsweise Laborexperimente mit *Daphnia magna* gezeigt, dass durch 17 α -Ethinylöstradiol und 4-Iso-Nonylphenol (Kopf, 1997) und PCP (Parks & LeBlanc, 1996) die Reproduktion reduziert und durch Diethylstilbestrol die Fruchtbarkeit der F2-Generation vermindert wird (Baldwin et al., 1995).

Zu endokrinen Effekten und ihnen zugrunde liegenden Wirkmechanismen ist bei Invertebraten bislang am wenigsten bekannt (Ankley et al., 1998; Hutchinson et al., 1999; Vos et al., 2000; Hutchinson, 2002; Oehlmann & Schulte-Oehlmann, 2003). Invertebraten sind bedeutende Glieder aquatischer Lebensgemeinschaften, weshalb durch endokrine Disruption bedingte Einbrüche in Populationen drastische Auswirkungen auf aquatische Nahrungsnetze haben können. Es wurden bisher vorwiegend Laboruntersuchungen durchgeführt, wobei die in Oberflächengewässern möglicherweise vorkommenden Interaktionen zwischen Chemikalien, die Wechselwirkungen mit biotischen und abiotischen Faktoren sowie die zeitlichen Schwankungen in der Exposition nicht mit einbezogen wurden. Um nicht nur die Potenz zur endokrinen Disruption sondern tatsächliche Effekte im Freiland abschätzen zu können, muss ein Expositions- und Effektmonitoring an Freilandpopulationen durchgeführt werden (Matthiessen, 2000). Als Grundlage für eine eventuell notwendige Regulierung potenziell endokriner Disruptoren werden Belege für ursächliche Zusammenhänge zwischen der Exposition und den beobachteten Effekten gefordert. Solche Belege können nur in einem Projekt geliefert werden, in dem neben einem Expositions- und Effektmonitoring auch Konzentrations-Wirkungs-Beziehungen und Wirkmechanismen untersucht werden (Ashby et al., 1997; Harrison et al., 1997; Ankley et al., 1998).

Die vorliegende Arbeit wurde im Rahmen des Projekts Xehogamm (UBA FKZ 299 65 221/05) durchgeführt. Dabei handelte es sich um eine Kooperation zwischen der AG Ökotoxikologie (Prof. R. Nagel), Institut für Hydrobiologie, TU Dresden und der Abt. Physiologische Ökologie der Tiere (Prof. H.-R. Köhler; PD Dr. R. Triebkorn), Zoologisches Institut, Universität Tübingen. Das Gesamtziel des Projekts Xehogamm (Xenohormone bei Gammariden) war die Darstellung und Bewertung möglicher endokriner Effekte von Umweltchemikalien auf Crustaceen. Dies wurde durch eine Verbindung von Freiland- mit Laboruntersuchungen und durch den kombinierten Einsatz chemisch-analytischer, morphologischer, histologischer und biochemischer Methoden erreicht. Die Aufgabenverteilung auf einzelne Personen im Projekt ist in Kap. II.2.1 und Kap. III.2.1 dargestellt.

Als Modellorganismus wurde *Gammarus fossarum*, ein wichtiger Vertreter der einheimischen Invertebratenfauna in Bächen, gewählt. Die Unterordnung Gammaridea umfasst zudem etwa 80% der bekannten Arten der marinen und limnischen Amphipoden (Pöckl, 2002). Aufgrund ihrer bedeutenden Stellung in limnischen Nahrungsnetzen, ihrer hohen Biomasse, ihrer Sensibilität gegenüber toxischen Stoffen und ihrer weiten natürlichen Verbreitung kann diese Gammaridenart als ein „Modellorganismus“ für die Invertebratenfauna eines Fließgewässers betrachtet werden.

Als Modellgewässer wurden der Lockwitzbach bei Dresden und die Körsch bei Stuttgart ausgewählt. Eine chemische Charakterisierung der Belastung beider Bäche mit Xenohormonen wurde im Projekt durchgeführt. Mit der Auswahl von jeweils einem Gewässer aus den alten und neuen Bundesländern wurde auch der Tatsache Rechnung getragen, dass in der DDR beispielsweise das Insektizid DDT deutlich länger und häufiger eingesetzt wurde (Heinisch et al., 1993). In der Körsch wurden bereits östrogene Potenziale im Bachwasser nachgewiesen (Körner et al., 1997). Es konnte gezeigt werden, dass ein bedeutender Eintrag potenziell endokrin wirkender Chemikalien in Oberflächengewässer über Kläranlagen erfolgt (Jobling & Sumpter, 1993; Shore et al., 1993; Stumpf et al., 1996; Körner et al., 2001). Hierbei kommen verschiedenen Phenolen (z.B. aus Weichplastik) sowie synthetischen Östrogenen (u.a. aus Kontrazeptiva) eine besondere Bedeutung zu. Diese Substanzen beeinflussen die Reproduktion von Fischen (Purdom et al., 1994; Gimeno et al., 1996; Christiansen et al., 1998). Durch die Beprobung ober- und unterhalb von kommunalen Kläranlagen bei den beiden Bächen wurde dieser mögliche Eintragspfad besonders berücksichtigt. Da im Rahmen des Projekts unmöglich alle Substanzen chemisch-analytisch erfasst werden konnten, für die eine mögliche endokrine Wirkung diskutiert wird, wurde aus verschiedenen Stoffgruppen eine repräsentative Auswahl an Chemikalien getroffen. Dabei handelte es sich um Substanzen mit bekanntem oder vermutetem östrogen wirksamen Potenzial.

Oberhalb und unterhalb der Einleiter wurden auf verschiedenen biologischen Ebenen Daten zu den Populationen von *G. fossarum* erfasst. Mittels molekularbiologischer Techniken wur-

den die Levels der Stressproteine hsp70 (Biomarker für allgemeinen Stress) und hsp90 (als Modulator steroidvermittelter Hormonwirkung) von *G. fossarum* bestimmt. Resultate aus histologischen Untersuchungen weiblicher Gonaden der Gammariden ermöglichten Aussagen zum Gesundheitsstatus und Eireifungszyklus der Tiere. Details zu diesen suborganismischen Untersuchungen können dem Abschlussbericht des Xehogamm-Projekts entnommen werden (Jungmann et al., 2004a). Die Struktur und Dynamik der Populationen wurden in einem 2-jährigen, passiven Effektmonitoring untersucht (Kap. II der vorliegenden Arbeit). Diese effektorientierten populationsrelevanten Befunde wurden mit den chemischen Daten zur Exposition in Beziehung gesetzt und bewertet.

In einem zweiten Schritt wurde *G. fossarum* gegenüber einer bei Vertebraten als östrogen wirksam diskutierten Substanz (Bisphenol A) unter kontrollierten Laborbedingungen (Fließrinnen) exponiert. Der Einfluss von Bisphenol A auf populationsrelevante ökotoxikologische Endpunkte (z.B. Reproduktion) wurde untersucht (Kap. III der vorliegenden Arbeit).

Zusätzlich wurde in einem anderen Experiment untersucht, ob Bisphenol A einen Einfluss auf die Osmoregulation (als weiteren subletalen Endpunkt) von Gammariden hat (Kap. IV der vorliegenden Arbeit).

Alle Rohdaten können der als Anhang beigefügten CD-ROM entnommen werden.

II FREILANDUNTERSUCHUNGEN ZUR POPULA- TIONSÖKOLOGIE VON *GAMMARUS FOSSARUM*

II.1 Einleitung

Aus dem Freiland liegen über den Einfluss von endokrin wirksamen Chemikalien auf Crustaceen kaum Informationen vor. Bei Harpacticoiden (Copepoda) wurde eine erhöhte Häufigkeit von Intersexen in der Nähe eines Klärwerkseinleiters festgestellt (Moore & Stevenson, 1991). Eine Korrelation zwischen Intersexhäufigkeit und Entfernung vom Klärwerkseinleiter konnte nicht nachgewiesen werden (Moore & Stevenson, 1994). Auch Sillett & Stemberger (1998) vermuteten einen Zusammenhang zwischen dem Auftreten von Intersexen bei Copepoden (*Leptodiptomus minutus*) und Verschmutzungen von Gewässern. Gross et al. (2001) untersuchten den potenziellen Einfluss von Klärwerkseinleitungen auf verschiedene morphologische Merkmale bei *Gammarus pulex*. Mehrmonatige Untersuchungen zur Populationsdynamik wurden jedoch von ihnen nicht durchgeführt.

Ziel dieses Teils der Dissertation war, mögliche Unterschiede in der Populationsstruktur und -dynamik bei *Gammarus fossarum* ober- und unterhalb von Klärwerkseinleitern bei zwei Mittelgebirgsbächen zu erfassen und zu bewerten.

II.2 Material und Methoden

II.2.1 Aufgabenverteilung im Projekt

Die Aufgabenverteilung bei den Freilanduntersuchungen ist in Tab. 1 dargestellt.

Tab. 1: Aufgabenverteilung bei den Freilanduntersuchungen im Projekt Xehogamm.

Aufgabe	Personen
Wasserprobenahmen beim Lockwitzbach (April - Juni 2000) ; Erfassung physikalisch-chemischer sowie populationsrelevanter Daten vom Lockwitzbach von April bis Juni 2000	N. Metag
Wasserprobenahmen beim Lockwitzbach (ab Juli 2000); Erfassung physikalisch-chemischer sowie populationsrelevanter Daten vom Lockwitzbach ab Juli 2000	V. Ladewig
Erfassung populationsrelevanter Endpunkte bei den Gammariden von der Körsch	V. Ladewig
GC/MS-Analytik	K.-U. Ludwichowski
Wasserprobenahmen und Gammaridenprobenahmen bei der Körsch; Erfassung physikalisch-chemischer Variablen in der Körsch	A.M.I. Köhler, T. Preuß, N. Rüb, M. Schirling, A. Woitschella
Untersuchungen von hsp70/90 in Gammariden	T. Preuß, M. Schirling
Histologische Untersuchungen der Gonaden von Gammariden	A.M.I. Köhler, A. Woitschella

II.2.2 Zur Biologie von *Gammarus fossarum*

Der Bachflohkrebs, *Gammarus fossarum* KOCH, 1835, gehört zum Stamm der Arthropoda, Klasse der Crustacea, Ordnung der Amphipoda und Familie der Gammaridae (Goedmakers, 1972). *G. fossarum* wird bis ca. 17 mm groß (Schellenberg, 1942) und weist eine bräunliche Färbung auf (Goedmakers, 1972). Abb. 1 zeigt ein Tier dieser Spezies, das wegen seiner Fixierung durch Ethanol eine gelb-orangene Färbung besitzt.



Abb. 1: *Gammarus fossarum* KOCH, 1835. (Foto: J. Schmidt)

Zusammen mit *G. pulex* und *G. roeseli* gehört *G. fossarum* zu den häufigsten Gammaridenarten der Fließgewässer Mitteleuropas (Goedmakers, 1972; Pöckl, 1993a). Er besiedelt vor allem die Oberläufe von Mittelgebirgsbächen (Ludwig, 1993). Im Gegensatz zu anderen Gammariden toleriert er relativ hohe Strömungsgeschwindigkeiten und niedrige Wassertemperaturen (Goedmakers, 1972). Daher befindet sich der optimale Lebensraum von *G. fossarum* in sommerkühlen Bächen in der unteren Forellen-, Äschen- und in der oberen Barbenregion (Pöckl, 1993a). Diese Gammaridenart ist im Bach bevorzugt in Erlenwurzelgeflecht (eigene Beobachtung), in Falllaubansammlungen und zwischen Wasserpflanzen (Pöckl, 1993a; eigene Beobachtung), aber auch unter Steinen und im Sediment zu finden. *G. fossarum* kommt häufig in hoher Abundanz von mehreren tausend Individuen pro m² vor (Pöckl, 1993a). Meijering & Pieper (1982) betonen die Indikatorbedeutung der Gattung *Gammarus* für die Beurteilung der Belastung von Fließgewässern. Innerhalb der Gattung wird *G. fossarum* als besonders empfindlich gegenüber anthropogenen Störungen des Gewässers angesehen (Goedmakers, 1972; Meijering & Pieper, 1982). *G. fossarum* ernährt sich hauptsächlich von Falllaub im Gewässer (Bick, 1959; Haeckel et al., 1973; Pöckl, 1993a). Daneben kann *G. fossarum* mit Hilfe seines Pleopodenschlags kleine Nahrungspartikel (FPOM) aus dem Wasser filtrieren (Ponyi, 1956). Auch Kannibalismus wurde beobachtet (Pöckl, 1993a; eigene Beobachtung).

Gammariden nehmen eine Schlüsselstellung im Nahrungsnetz von Bächen ein (Meijering & Pieper, 1982), die in ihren hohen Abundanzen, der detritivoren Ernährungsweise und der

wichtigen Rolle als Fischnahrung (insbesondere für Forellen, Lehmann, 1967) begründet ist.

G. fossarum ist eine gonochoristische (getrenntgeschlechtliche) Art. Die Anatomie der äußeren Geschlechtsorgane sowie die Reproduktionsvorgänge wurden detailliert in Heinze (1932) beschrieben. Männliche Gammariden bilden ein Paar Penisapillen aus. Die Penisapillen befinden sich bei adoleszenten und adulten Männchen zwischen dem letzten Schreitbeinpaar am Sternit des 7. Peræonsegments und sind von den beiden *Vasa deferentia* durchzogen, die an der Spitze der Papillen ausmünden. Bei weiblichen Gammariden bilden sich an der Ventralseite im Thoraxbereich im Laufe der Entwicklung zur Geschlechtsreife vier Paare von Brutlamellen aus. Diese sogenannten Oostegiten werden bei jeder Häutung größer. Bei adulten Weibchen überlappen die Oostegiten und sind zusätzlich an ihren Rändern mit langen Borsten gesäumt, die sich miteinander verhaken, so dass ein Brutraum (Marsupium) gebildet wird. Im Alter von 3 - 4 Monaten nach ca. 10 Häutungen werden die Tiere geschlechtsreif.

Die Eiablage ins Marsupium kann nur nach einer Häutung des Weibchens stattfinden, und unbefruchtete Eier sterben nach wenigen Stunden ab. Um sicherzustellen, dass das Männchen zum Zeitpunkt der Eiablage in der Nähe des Weibchens ist, hat sich bei den Männchen während der Evolution die Strategie der Brautbewachung, „mate guarding“, entwickelt (Birkhead & Clarkson, 1980). Pheromone des Weibchens (Borowsky, 1991) signalisieren dem Männchen, in welchem Stadium des Häutungszyklus sich das Weibchen befindet. Weibchen, die kurz vor der Häutung stehen, werden von Männchen bevorzugt gegriffen (Birkhead & Clarkson, 1980; Dick & Elwood, 1989). Das Männchen greift das Weibchen mit Hilfe seiner 1. Gnathopoden und trägt das Weibchen longitudinal zu seiner eigenen Position, in der sogenannten Reiterstellung, mit sich herum. Diese Paarbildung wird Präkopula genannt. Sie kann je nach Wassertemperatur und Stadium des Häutungszyklus des Weibchens unterschiedlich lange dauern (z.B. bei 9 °C Wassertemperatur 9 Tage bei *G. pulex*, Birkhead & Clarkson, 1980). Nach der Häutung des Weibchens und der Eiablage wird das Weibchen vom Männchen so gedreht, dass beide Tiere mit ihrer Ventralseite kreuzweise aneinander liegen. Die Eier werden im Marsupium befruchtet, danach trennen sich die Tiere (Heinze, 1932).

Die Embryonen entwickeln sich innerhalb der im Marsupium befindlichen Eier. Nach dem Schlupf bleiben die Juvenilen noch einen oder mehrere Tage im Marsupium (die sogenannte „posthatch time“, Pöckl, 1993a). Die Brutentwicklungszeit (Embryonalentwicklungszeit plus „posthatch time“) ist temperaturabhängig, sie beträgt beispielsweise bei 16 °C 21 Tage (Pöckl, 1993a). Die Lebensdauer von *G. fossarum* beträgt etwa 12 - 18 Monate (Lehmann, 1967; Pöckl, 1990). Ein Weibchen von *G. fossarum* kann theoretisch bis zu 8 Bruten in seinem Leben hervorbringen (Pöckl, 1993a).

Gammariden können verschiedene Parasiten besitzen (Schellenberg, 1942). Makroskopisch sichtbar sind Acanthocephalen, die als gelborangener (*Pomphorhynchus laevis*) oder orange-

roter Fleck (*Polymorphus minutus*) im Körper des lebenden Tieres durch den Chitinpanzer hindurch sichtbar sind (Bollache et al., 2001). Die Klasse der Acanthocephala (Kratzer) gehört zum Stamm der Nematelminthes und umfasst über 500 Arten. Die ausgewachsenen Würmer leben im Darm von Wirbeltieren. Als Zwischenwirte für das Larvenstadium (Acanthella) dienen Gammariden und andere Arthropoden.

II.2.3 Charakterisierung der Untersuchungsgewässer und Probenahmestellen

II.2.3.1 Lockwitzbach

II.2.3.1.1 Charakterisierung des Lockwitzbachs

Der Lockwitzbach befindet sich südöstlich von Dresden. Er entspringt im Erzgebirge in der Nähe des Ortes Oberfrauendorf und mündet bei Kleinzschachwitz (einem Ortsteil Dresdens) in die Elbe. In den Orten Kreischa, Lungkwitz und Reinhardtsgrimma zeichnen sich die am Bach angrenzenden Flächen durch eine mittlere bis geringe Bebauungsdichte aus. Im Ort Kreischa ist der Lockwitzbach stark verbaut (Hochwasserschutzbauwerke, Sohlenverbau mit Beton, Mauerwerk und Pflaster) (Metag, 2000). Sohlabstürze, die eine Aufwanderung von Gammariden 100%ig verhinderten, sind jedoch nicht vorhanden. Zwischen den Ortschaften ist der Bach von Dauergrünland und Laubmischwald umgeben (Sächsisches Landesamt für Umwelt und Geologie, 1995). Oberhalb von Lungkwitz ist das Gestein aus Kalklinsen und feinkörnigem, schuppigem Biotitgneis zusammengesetzt. Im Bereich des anschließenden Lockwitztals besteht der Untergrund aus Auelehm, Kies und Schotter (Landesvermessungsamt Sachsen, 1916). Der Waldgürtel, der sich direkt am Bach entlang zieht, kann den Pflanzengesellschaften Alno-Ulmion (Auenwald) und Salicetum fragilis (Bruchweiden-Gehölz) zugeordnet werden (Herrguth et al., 1995). Der Lockwitzbach ist momentan in die Gewässergüteklasse II (mäßig belastet) eingestuft (Mitteilung durch das Staatliche Umweltfachamt Radebeul, 2000).

II.2.3.1.2 Charakterisierung der Probenahmestellen

Die Probenahmestelle Lo (Abb. 2a) liegt knapp 6 km oberhalb des Klärwerkseinleiters, direkt oberhalb des Ortes Lungkwitz (230 m ü. NN). Je nach Saison und Lage des beprobten Transekts betrug die Wassertiefe etwa 10 - 30 cm, die Bachbreite etwa 2,5 - 5,5 m und die Fließgeschwindigkeit maximal 0,1 - 1,2 m/s.

Die Probenahmestelle Lu (Abb. 2b) befindet sich in Gombsen (193 m ü. NN), unterhalb des Einleiters des Klärwerks Kreischa (Kap. II.2.3.1.3). Metag (2000) überprüfte die Vermischung des Wassers aus dem Einleiter mit dem Bachwasser. Entsprechend wurde der Bachabschnitt für die Probenahme etwa 500 m unterhalb des Einleiters festgelegt. Je nach Saison und Lage des beprobten Transekts betrug die Wassertiefe etwa 14 - 67 cm, die Bachbreite etwa 2,3 - 8,2 m und die Fließgeschwindigkeit maximal 0,2 - 1,3 m/s. Die Durchflussmenge lag beispielsweise im Untersuchungszeitraum 2000 in der Größenordnung von 50 - 480 L/s (Metag, 2000 und eigene Daten).

Die beiden Probenahmestellen für die Populationsuntersuchungen im Lockwitzbach lagen etwa 6 km auseinander. Dadurch wurde gewährleistet, dass eine Durchmischung der Gammaridenpopulationen durch Aufwanderung und Drift unwahrscheinlich war.



Abb. 2: a) Probenahmestelle oberhalb und b) unterhalb des Einleiters beim Lockwitzbach. Fotos: D. Jungmann.

An beiden Probenahmestellen war der Bachverlauf naturbelassen mäandrierend und von *Alnus glutinosa* (Schwarzerle) gesäumt. Das Makrozoobenthos in einigen der Proben, die für die vorliegende Studie gezogen wurden, wurde von H.-P. Reike im Rahmen einer Belegarbeit charakterisiert: Neben *G. fossarum* dominierten Dipterenlarven (vor allem Chironomidae). Innerhalb der Ordnung Diptera wurden Ceratopogonidae hauptsächlich an der unteren Probenahmestelle gefangen. Danach folgte zahlenmäßig die Ordnung der Ephemeroptera, dabei an

der unteren Probenahmestelle mehr Baetidae, Caenidae und *Ephemerella ignita* und an der oberen Probenahmestelle mehr Heptageniidae, Leptophlebiidae und *Ephemerella danica*. Weitere Ordnungen mit hohen Abundanzen waren Trichoptera (vor allem Limnephilidae und *Hydropsyche*) und Plecoptera (vor allem Leuctridae und Perlodidae). Anhand der in den Proben vorhandenen Indikatorarten wurde von H.-P. Reike für die obere Probenahmestelle ein Saprobienindex von 1,8 und für die untere Probenahmestelle von 1,9 berechnet. Dies ergab für Lo eine Einordnung in die Gewässergüteklasse I-II (gering belastet) und für Lu eine Einstufung in die Gewässergüteklasse II (mäßig belastet).

Die beiden Probenahmestellen ähnelten sich hinsichtlich ihrer Struktur und Gewässergüte. Ein Unterschied bestand in den Substratverhältnissen. Im Gegensatz zur unteren Probenahmestelle kamen an der oberen Probenahmestelle in Bereichen starker Strömung neben Kies und Geröll auch größere Felsblöcke (etwa 50 x 75 x 50 cm) vor. Ein weiterer Unterschied betraf die Lichtverhältnisse: Die obere Probenahmestelle war durch Laub deutlich stärker beschattet als die untere Probenahmestelle.

II.2.3.1.3 Charakterisierung des Klärwerks

Das Klärwerk von Kreischa wurde 1990 gebaut. Seine Kapazität beträgt 12.000 EWG. Zur Zeit werden hier die Abwässer von 7.000 angeschlossenen Einwohnern, einer Rehabilitationsklinik und etwa 3.000 Einwohner, die den Inhalt ihrer Fäkalgruben anliefern lassen, gereinigt (Metag, 2000). Die Reinigung erfolgt in 3 Becken: Belebtschlammbecken, Phosphatfällungsbecken und Nachklärbecken. Durchschnittlich werden 950 - 1200 m³/Tag, d.h. etwa 11 - 14 L/s gereinigtes Abwasser (gemessen im Ablauf) in den Lockwitzbach eingeleitet (pers. Mitteilung Hanke, Klärwerk Kreischa). Das Abwasser gelangt durch ein unterirdisches Betonrohr nach 500 m in den Lockwitzbach. Die Mündung des Einleiters ist in Abb. 3 zu sehen.



Abb. 3: Der Einleiter des Klärwerks Kreischa am Lockwitzbach. Foto:D. Jungmann.

II.2.3.2 Körsch

II.2.3.2.1 Charakterisierung der Körsch

Die Körsch entspringt unter dem Namen Sindelbach westlich von Stuttgart auf einer Höhe von ca. 480 m ü. NN und mündet nach einer Fließstrecke von etwa 25 km bei Deizisau in den Neckar. Das Einzugsgebiet beträgt ca. 127 km² und umfasst den landwirtschaftlich intensiv genutzten und stark besiedelten Filderraum, den südlichen Stadtbereich von Stuttgart und die Ausläufer des Schönbuchs (Tribskorn, 1997). Das Gefälle der Körsch ist mit durchschnittlich 64 ‰ eher gering. Mit einer mittleren Wassertiefe von 50 cm und einer Breite von maximal 8 m gehört die Körsch zu den kleineren bis mittleren Fließgewässern. Die Wasserführung beträgt 0,6 - 1,8 m³/s. Die organisch stark belastete Körsch besitzt insgesamt die Gewässergütekategorie II-III (Tribskorn et al., 2001). Bezogen auf die Wasserhärte wird ihr Wasser als „hart“, bezogen auf den pH-Wert als „schwach basisch“ mit guten Puffereigenschaften eingestuft (Tribskorn, 1997). Der Untergrund des Bachs besteht in langsam fließenden Abschnitten aus Schlamm, Lehm und Sand. In schnell fließenden Abschnitten sind Kies und größere Steine vorhanden. Außerhalb von Ortschaften ist die Körsch naturbelassen, mäandrierend und weist einen Saum aus Schwarzerlen, Weiden, Eschen, Haselnuss und Weißdorn auf (Tribskorn, 1997).

II.2.3.2.2 Charakterisierung der Probenahmestellen

Die obere Probenahmestelle an der Körsch (Ko) (Abb. 4a) liegt ca. 500 m oberhalb der Kläranlage Möhringen (391m ü. NN). Aufgrund ihrer Struktur kann die Körsch in diesem Abschnitt als „leicht beeinflusst“ (nach LfW - RP, 1998), die Wasserqualität nach LfU-BW (1997) als „leicht verschmutzt“ eingestuft werden (beides zitiert in Jungmann et al., 2004a). Der Saprobienindex beträgt 2 (R. Tribskorn, pers. Mitteilung). Der Gewässerrandstreifen ist an dieser Probenahmestelle teils landwirtschaftlich genutzt, teils grenzen Schrebergärten ans Ufer. Je nach Saison und Lage des beprobten Transekts betrug die Wassertiefe etwa 10 - 30 cm und die Bachbreite etwa 1,2 - 2,8 m.

Die untere Probenahmestelle (Ku) (Abb. 4b) liegt ca. 3 km flussabwärts der Kläranlage in der Ortschaft Plieningen. Der beprobte Bachabschnitt befindet sich oberhalb einer Kanalisierung, die unter einer Strasse verläuft. In Trockenperioden liegt der Abfluss der Körsch ohne Einleiterwasser bei nur 25 L/s (Tribskorn, 1997). Der Wasserkörper besteht daher insbesondere zu diesen Zeiten an der unteren Probenahmestelle zum größten Teil aus geklärtem Abwasser, das aus dem Einleiter der Kläranlage Möhringen stammt (s. Kap.II.2.3.2.3). Je nach Saison und Lage des beprobten Transekts betrug die Wassertiefe etwa 25 - 45 cm und die Bachbreite et-

wa 5,8 - 6,7 m. Der Saprobienindex wurde nicht direkt an dieser Probenahmestelle bestimmt, 10 km unterhalb der Kläranlage wurde ein Saprobienindex von 2 ermittelt (R. Tribskorn, pers. Mitteilung).

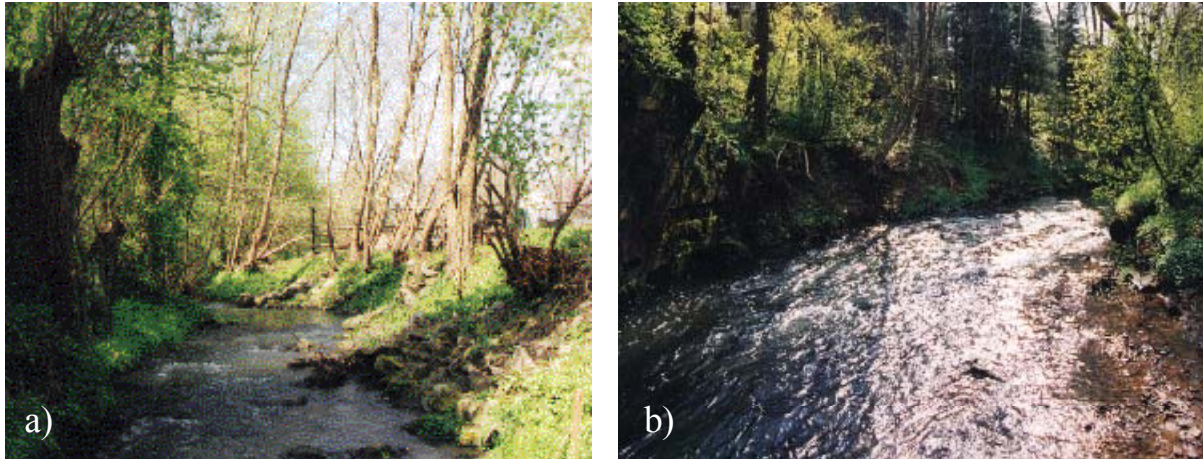


Abb. 4: a) Probenahmestelle oberhalb und b) unterhalb des Einleiters bei der Körsch. Fotos: M. Schirling.

Im Gegensatz zum Lockwitzbach wurde das Makrozoobenthos bei der Körsch nicht detailliert untersucht. In den für die Untersuchung der Gammaridenpopulationen gezogenen Makrozoobenthos-Proben fiel auf, dass bei der Körsch im Gegensatz zum Lockwitzbach, und zwar insbesondere an der Probenahmestelle Ku, mehr *Asellus aquaticus* und *Erpobdella octoculata* vorhanden waren.

II.2.3.2.3 Charakterisierung des Klärwerks

Von 6 Anlagen an der Körsch leitet das Klärwerk Möhringen als am weitesten oberhalb gelegene in die Körsch ein. Es besitzt eine Kapazität von 149.500 EWG (Körner, 2000). Bei den Einleitungen handelt es sich zu 60 - 70 % um häusliche Abwässer, der Rest sind industrielle Abwässer (Tribskorn, 1997) und Straßenabwässer (R. Tribskorn, pers. Mitteilung). Methoden der Abwasserreinigung im Klärwerk Möhringen sind: Belebung, Nitrifikation, Denitrifikation und Phosphateliminierung (Körner, 2000).

II.2.4 Physikalisch-chemische Parameter

Physikalisch-chemische Parameter des Wassers wurden beim Lockwitzbach während des Untersuchungszeitraums für die Populationsuntersuchungen im 14-tägigen Rhythmus, bei der Körsch monatlich erfasst. Bei den Probenahmen wurden die physikalischen Parameter Temperatur (°C), pH-Wert, Leitfähigkeit (µS/cm), Sauerstoffkonzentration (mg/L) und -sättigung

(%) an jeder Probenahmestelle sowie im jeweiligen Einleiter des Klärwerks gemessen (Multiparametermessgerät MultiLab P4, WTW). Außerdem wurden bei jeder Probenahme die Bachbreite und Wassertiefe mit Hilfe eines Zollstocks vermessen. Beim Lockwitzbach wurde zusätzlich die Fließgeschwindigkeit mittels eines Messgeräts (MiniAir 2, Schiltknecht) bestimmt.

Jeweils 0,5 L Wasser wurden in PE-Flaschen in der fließenden Welle gefüllt und gekühlt ins Labor transportiert. Carbonat- und Gesamthärte wurden im Labor sofort mittels Titrations-Testkits (Merck) bestimmt. Der jeweilige Rest der Probe wurde filtriert (0,2 µm Membranfilter, Schleicher & Schüll) und bis zur weiteren Analyse bei –18 °C gelagert. Dies war möglich, da ein im Rahmen des Projekts durchgeführter Vergleich zwischen Wasserproben mit und ohne Lagerung keine Unterschiede in den untersuchten Nährstoffkonzentrationen zeigte. Ammonium, Nitrit, Nitrat, ortho-Phosphat und Chlorid wurden mittels Testkits (Macherey & Nagel) mit einem Nanocolor 300 D Photometer (Macherey & Nagel) bestimmt.

II.2.5 Analytik von östrogen wirksamen Umweltchemikalien im Wasser mittels GC/MS

Für die chemische Analytik von östrogen wirksamen Umweltchemikalien mittels GC/MS wurde pro Probenahmestelle monatlich von April bis Oktober 2000 und 2001 eine 2,5 L-Glasflasche mit Bachwasser befüllt. Vom jeweiligen Einleiterwasser wurde unter Mithilfe der Klärwerksbetreiber pro Probenahmetermin eine 24 h-Mischprobe gezogen. Alle Wasserproben wurden gekühlt ins Labor transportiert.

Die Analyse auf 34 Substanzen mit (bei Vertebraten) bekanntem oder vermutetem östrogenen Potenzial wurde im Xehogamm-Projekt von K.-U. Ludwichowski mittels GC/MS durchgeführt. Die Methodik ist im Abschlussbericht von Xehogamm (Jungmann et al., 2004a) beschrieben. Im Untersuchungsjahr 2000 wurde die Methode zunächst im Labor etabliert, Analyseergebnisse stehen daher nur für den Untersuchungszeitraum 2001 zur Verfügung.

II.2.6 Untersuchungen bei Gammariden

II.2.6.1 Nichtselektive Beprobung der Gammaridenpopulationen

Der Lockwitzbach wurde für die Untersuchung der Struktur und Dynamik von Gammaridenpopulationen in den Jahren 2000 und 2001 jeweils von April bis Oktober im etwa vierwöchigen Intervall beprobt. Ebenso wurde an der Körsch im Jahr 2000 verfahren. Im Jahr 2001 fanden die Probenahmen in der Körsch im April, Juli, September und Oktober statt. In

Tab. 2 sind die genauen Probenahmeterminale aufgelistet.

Tab. 2: Probenahmeterminale für die Untersuchungen der Struktur und Dynamik von Gammaridenpopulationen in Lockwitzbach und Körsch.

Lockwitzbach		Körsch	
2000	2001	2000	2001
14.04.			
25.04.	24.04.	25.04.	23.04.
23.05.	21.05.	06.06.	
20.06.	20.06.	04.07.	
18.07.	18.07.	01.08.	17.07.
15.08.	14.08.	29.08.	
12.09.	12.09.	26.09.	13.09.
12.10.	10.10.	24.10.	11.10.

Beprobt wurde in beiden Bächen in einem 0,5 m breiten, zufällig ausgewählten Transekt, wobei jedoch darauf geachtet wurde, möglichst typische Gammaridenhabitate mit zu erfassen. Die Lage im Bachabschnitt, Breite, Fließgeschwindigkeit, Wassertiefen und die Habitatstrukturen des Transekts wurden protokolliert. Bei der Probenahme wurde mittels Kicksampling (Whitehurst & Lindsey, 1990; Schwoerbel, 1994) das Bachbett aufgewirbelt und die Probe in einem MOS-Sampler aufgefangen. Der MOS-Sampler (nach Metag modifizierter Surber-Sampler; Metag, 2000) ist in Abb. 5 dargestellt. Die Probenahme mit Hilfe eines Surber-Samplers (Schwoerbel, 1994) ist nicht selektiv, so dass diese Methode besonders für Untersuchungen der Populationsstruktur geeignet ist. Der MOS-Sampler bestand aus einem Gestell mit einer Öffnung von 50x50 cm und 2 ebenso großen Seitenwänden aus Plexiglas. Die Grundfläche (ebenfalls 50x50 cm) war offen, um auch auf unebenes Substrat aufgesetzt werden zu können. Eine Seitenfläche wurde weggelassen, um den Uferbereich leichter beproben zu können. An das Gestell schloss sich ein Fangschlauch aus Gaze (Maschenweite = 300 µm) an, an dem die Fangflasche aus PE (2 L; ohne Boden) befestigt war. Die Probe gelangte durch den Schlauch in die Flasche, deren Bodenöffnung ebenfalls mit Gaze (Maschenweite = 300 µm) verschlossen war. Dadurch konnte das Wasser abfließen und die Probe wurde zurückgehalten.

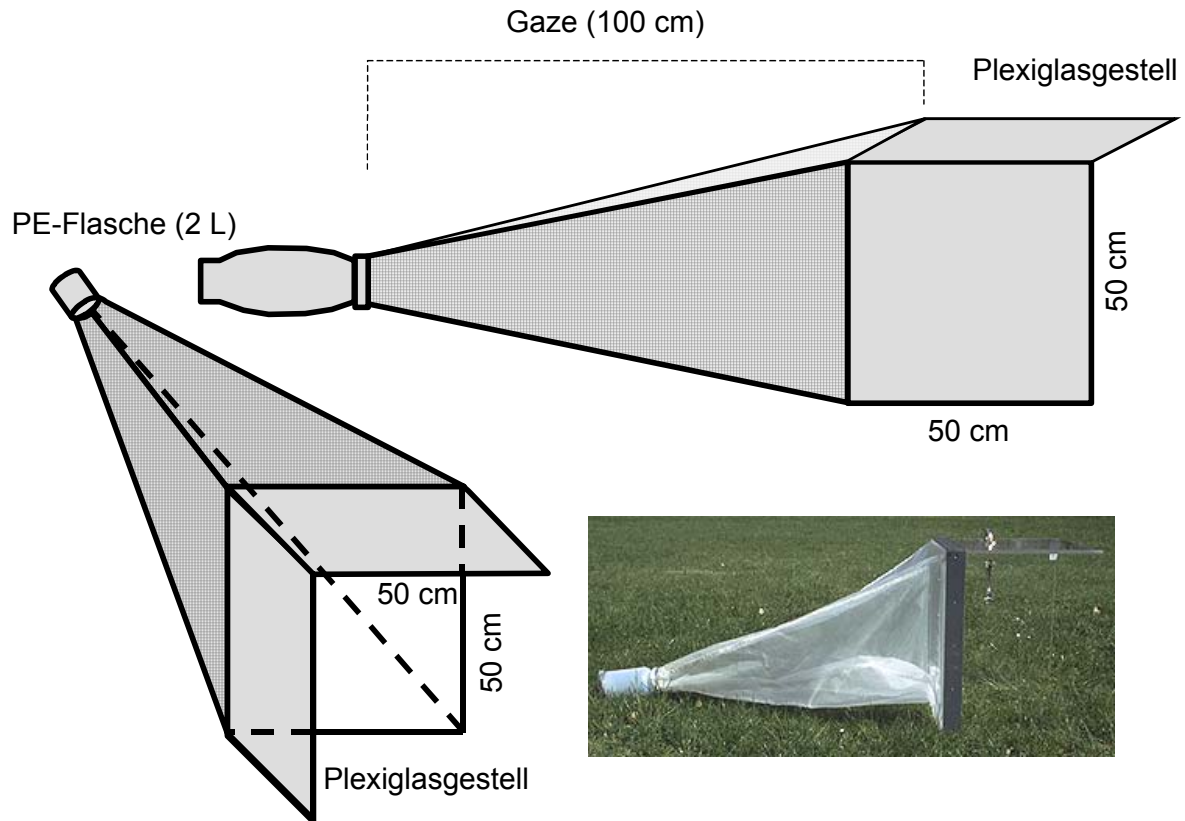


Abb. 5: Skizze und Foto eines MOS-Samplers. Foto: D. Jungmann.

Im Lockwitzbach wurde jeweils das gesamte Transekt von Ufer zu Ufer in 50 cm-Schritten beprobt. Zwischendurch wurde der Inhalt der Fangflasche mehrmals in einen Kunststoffeimer (5 L; mit Bachwasser gefüllt) überführt. Der Kunststoffeimer wurde mit einem Deckel verschlossen und ins Labor transportiert. Wegen der hohen Abundanzen der Gammariden in der Körsch (vor allem an der unteren Probenahmestelle) wurde in diesem Bach nur an 3 Stellen des Transekts beprobt. In der Körsch wurde dabei jeweils einmal am linken Ufer, in der Bachmitte und am rechten Ufer der MOS-Sampler aufgestellt und die Probe mittels Kick-sampling in den MOS-Sampler befördert. Folglich bestand bei der Körsch die beprobte Gesamtfläche pro Probenahme aus $3 \times 0,25 \text{ m}^2 = 0,75 \text{ m}^2$.

II.2.6.2 Aufarbeitung der Proben im Labor

Im Labor wurden die Proben aus den Transportbehältern in PE-Fotoschalen (28x22x6 cm, Merck) überführt und die Gammariden per Hand aussortiert. Nach Möglichkeit wurden die Gammariden einzeln in 1,5 mL-Eppendorfgefäße (Merck) in 75 % Ethanol (vergällt) fixiert. Besonders bei den Proben aus der Körsch war das aufgrund der hohen Zahl an Gammariden je

Probenahme nur zum Teil möglich. Aus diesen Proben wurden die Gammariden gemeinsam in einem Sammelgefäß mit 75 % Ethanol fixiert. Auch der Rest der Probe (anderes Makrozoobenthos, etwas Sediment, Blätter, Algen und Detritus) wurde in 75 % EtOH aufbewahrt. Jeder Probenrest wurde nachträglich noch einmal auf noch vereinzelt zu findende Gammariden durchgesehen.

II.2.6.3 Subsampling großer Proben von Gammariden

Aufgrund der hohen Anzahl an Gammariden vor allem an der unteren Probenahmestelle der Körsch wurden teilweise nur Subsamples (= Unterproben) ausgewertet.

Mit Hilfe eines Sample-Splitters konnten die Gammariden einer Probe in 8 Subsamples aufgeteilt werden. Beim verwendeten Sample-Splitter handelte es sich um eine Modifikation aus dem „Askö“-Sample-Splitter (Elmgren, 1973) und dem unteren Teil des von Pfankuche & Thiel (1988) beschriebenen modifizierten „Jensen“-Sample-Splitters (Jensen, 1982). Diese Sample-Splitter wurden ursprünglich für die Aufteilung von Meiofauna-Proben konstruiert. Der in der vorliegenden Untersuchung verwendete Sample-Splitter für die Aufteilung von Gammaridenproben wurde deshalb mit größeren Abmessungen angefertigt (Abb. 6). Er bestand aus einer großen Mischkammer, deren unterer Teil in 8 gleich große Kammern aufgeteilt war. Am Boden jeder Kammer befand sich eine Öffnung, die mit einem Stopfen verschlossen wurde. In Höhe der Oberkante der Kammerwände war eine kleine Öffnung in die Wand der Mischkammer gebohrt, die ebenfalls mit einem Stopfen verschlossen wurde.

Die Aufteilung der Probe wurde folgendermaßen durchgeführt: Die Gammariden einer Probe wurden in die Mischkammer (2) gegeben. Die Mischkammer wurde vollständig mit 75 % EtOH (vergällt) gefüllt und mit einem Deckel (1) verschlossen. Durch mehrmaliges Umdrehen und Schütteln des Geräts wurde die Probe durchmischt. Dann wurde das Gerät auf einen ebenen Untergrund gestellt. Die Sedimentation und Trennung der Probe erfolgte für mind. 15 Minuten. Danach wurde der Deckel geöffnet und überschüssiges Ethanol über die Öffnung (3) an der Seite des Geräts durch einen Schlauch abgeleitet. Nacheinander wurde von jeder Kammer der Stopfen (4) am Boden gezogen und das Subsample in eine nummerierte Petrischale aus Glas ($d = 18 \text{ cm}$) abgelassen. Die Subsamples wurden jeweils in ein Rollrandglas (20 mL, Merck) mit 75 % EtOH (vergällt) transferiert. Zu untersuchende Subsamples wurden mit Hilfe einer Zufallszahlentabelle (Köhler et al., 1995) ausgewählt. Je nach Anzahl der Gammariden wurden ein oder mehrere Subsamples ausgewertet. Die Gammariden aus diesen Subsamples wurden einzeln in 1,5 mL-Eppendorfgefäßen (Merck) mit 75 % EtOH (vergällt) aufbewahrt. Der Sample-Splitter war validiert worden, indem bei einer Probe alle 8 Subsamples ausgewertet und mittels χ^2 -Mehrfeldertest auf Gleichverteilung geprüft wurden. Es lag Gleichverteilung vor ($p > 0,05$), der Sample-Splitter wurde daher als valide betrachtet.

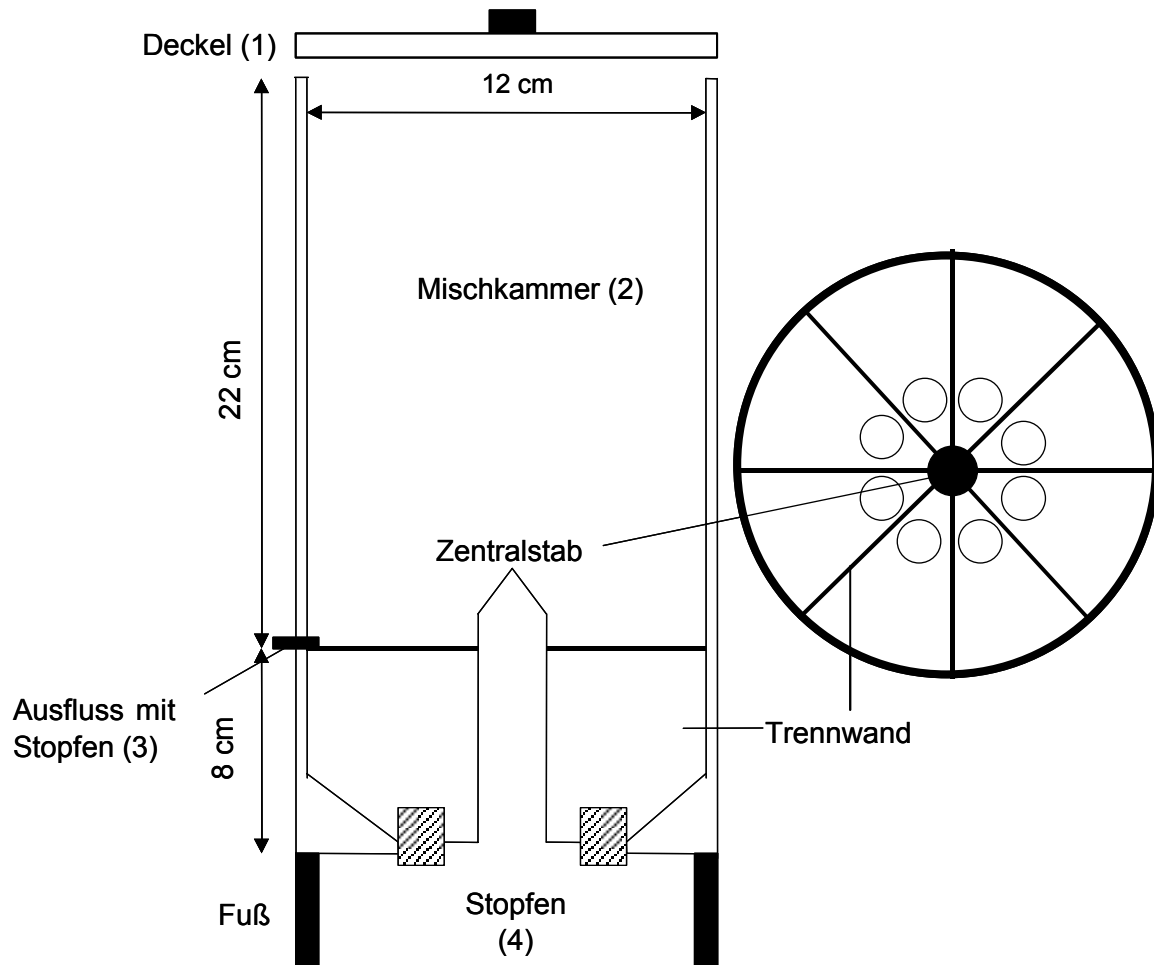


Abb. 6: Schematische Zeichnung des Sample-Splitters.

II.2.6.4 Handfang brütender Weibchen

Während der Untersuchung wurde wiederholt festgestellt, dass brütende Weibchen einzelne Eier aus dem Marsupium verlieren konnten, wenn sie in Ethanol fixiert wurden. Deshalb wurde darauf verzichtet, die Eier brütender Weibchen aus den MOS-Sampler-Proben zu zählen. Um dennoch die Fekundität von Weibchen der untersuchten Populationen zu bestimmen, wurden in der Körsch zu einigen Probenahmeterminen (Tab. 3) jeweils 10 brütende Weibchen per Handfang gesammelt.

Beim Handfang kam ebenfalls die Kicksampling-Methode (Schwoerbel, 1994) zum Einsatz. Die Gammariden wurden hierbei mit einem Küchensieb (Maschenweite = 2 mm) gefangen. Brütende Weibchen sind mit bloßem Auge an ihrem schwarz oder orange gefärbten Marsupium erkennbar und wurden sofort einzeln in 1,5 mL-Eppendorfgefäße (Merck) mit 75 % EtOH (vergällt) fixiert.

Tab. 3: Probenahmetermine des Handfangs brütender Weibchen in der Körsch.

2000		2001	
Körsch oben	Körsch unten	Körsch oben	Körsch unten
		23.04.	23.04.
		23.05.	23.05.
06.06.	06.06.	19.06.	19.06.
	04.07.	17.07.	17.07.
29.08.	29.08.		14.08.

II.2.6.5 Aktives Effektmonitoring-Experiment im Lockwitzbach

An der oberhalb des Klärwerkseinleiters gelegenen Probenahmestelle im Lockwitzbach wurde ein aktives Effektmonitoring durchgeführt. Dazu wurden 6 mm große *G. fossarum* aus dem Goldersbach in Expositionsboxen („Cages“) über 16 Wochen im Lockwitzbach exponiert. In jeden „Cage“ (16x12x5 cm L/B/H), der mit einem Nylonnetz (Maschenweite = 3 mm) umgeben war, wurden 200 Gammariden gegeben. Als Futter dienten ausreichend Blätter von *Alnus glutinosa* aus dem Lockwitzbach. 4 „Cages“ wurden in einen Metallkasten (V2A Edelstahl; 85x20x10 cm L/B/H) gestellt. Der Metallkasten wies an der Vorder-/Rück- und Oberseite eine Metallgaze (Maschenweite = 3mm) auf, so dass Wasser hindurch strömen konnte, nachdem der Metallkasten am Bachgrund fixiert worden war. Nach 4, 8 und 12 Wochen wurden Tiere für hier nicht dargestellte Untersuchungen der Kooperationspartner aus Tübingen entnommen. Die restlichen Tiere wurden nach 12 bzw. 16 Wochen entnommen und in 75 % EtOH (vergällt) fixiert. Diese Tiere wurden ebenfalls gemäß Kap.II.2.6.6 hinsichtlich populationsrelevanter Parameter untersucht.

II.2.6.6 Bestimmung populationsrelevanter Parameter bei den Gammariden

Die Gammariden wurden mit Hilfe eines Wild Binokulars (Leica) bei max. 30-facher Vergrößerung untersucht. Die Identifizierung der Art erfolgte in einer Petrischale (Polystyrol, d = 5,5 cm, Merck) in 75 % EtOH (vergällt) wie in Heinze (1932), Schellenberg (1942), Wautier & Roux (1959) und Goedmakers (1972) beschrieben. Besondere Aufmerksamkeit wurde dabei auf die Unterscheidung zwischen *Gammarus fossarum* und *Gammarus pulex* (L.) gelegt, da diese nah verwandten Arten (Wautier & Roux, 1959; Teichmann, 1982) auch in Mischpopulationen vorkommen können (Meijering, 1971; Roux, 1971). Vor allem die Männchen lassen sich anhand ihrer 3. Uropoden unterscheiden (Abb. 7): Bei *G. fossarum* ist der Innenast des 3. Uropoden jeweils nur etwa halb so lang wie der Außenast, bei *G. pulex* dagegen etwa $\frac{3}{4}$ so lang wie der Außenast. Männchen von *G. pulex* besitzen überdies eine

Borstenbürste an der Geißel der 2. Antennen (Abb. 7) und verdickte Geißelglieder. Im Gegensatz zu *G. fossarum* ist bei Männchen und Weibchen von *G. pulex* die Beborstung des 2. Glieds der 2. Antennen unregelmäßiger. Außerdem sind diese Borsten bei *G. fossarum* wesentlich länger als bei *G. pulex*. Bei juvenilen Gammariden kann die Art noch nicht bestimmt werden.

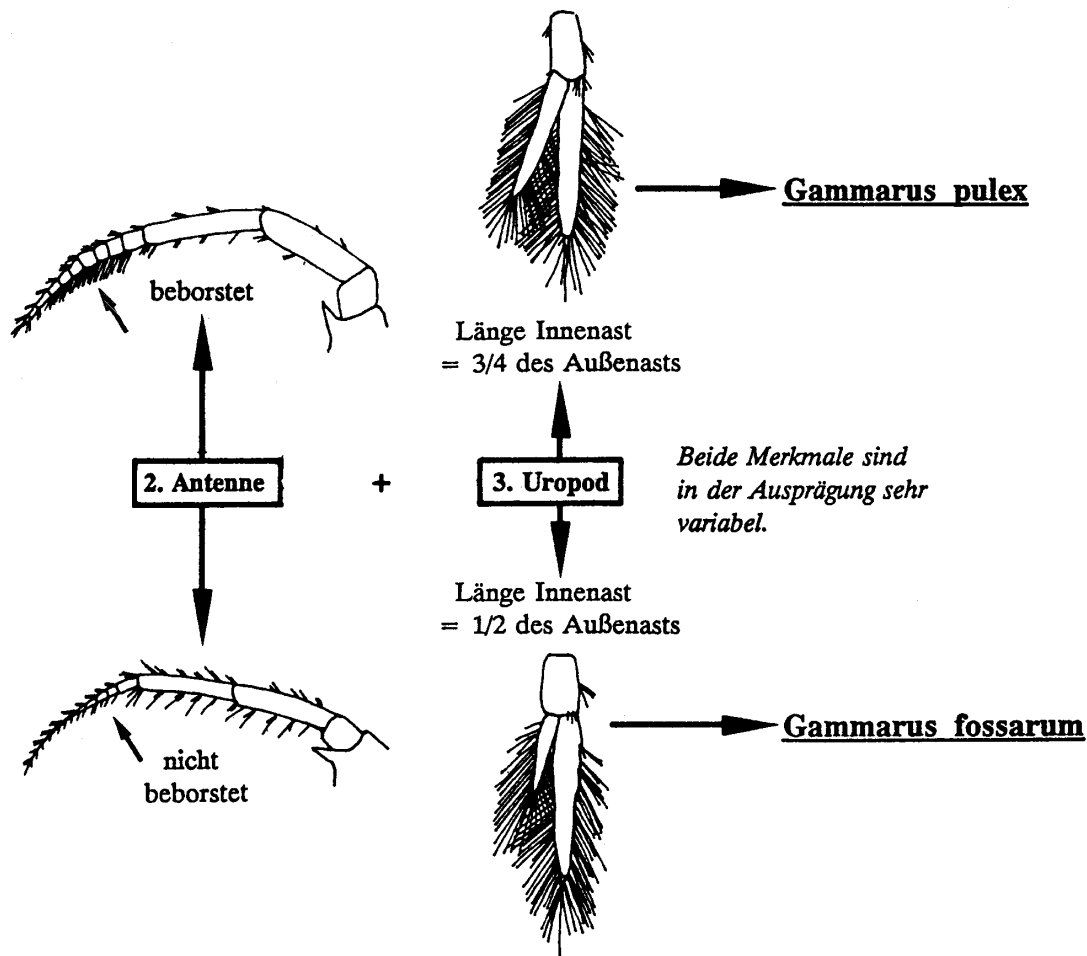


Abb. 7: Unterschiede zwischen *G. fossarum* und *G. pulex* (Männchen). Aus Schmedtje & Kohmann (1992).

Für die Geschlechtsbestimmung wurde das Tier jeweils auf dem Rücken auf einen mit Vaseline beschichteten Objektträger gelegt. Das Geschlecht wurde nach Heinze (1932) und Schellenberg (1942) anhand äußerer morphologischer Merkmale festgestellt. Juvenile Gammariden besitzen noch keine äußeren sekundären Geschlechtsmerkmale. Erst nach mehreren Häutungen (z.B. 7-8 bei Männchen bzw. 8 bei Weibchen von *G. duebenii*; Bulnheim, 1965) treten diese Geschlechtsunterschiede bei Gammariden auf. Bei *G. fossarum* können Weibchen

und Männchen ab einer Körperlänge zwischen 4 und 7 mm voneinander unterschieden werden (Obrdlík, 1972; Pöckl, 1993a und eigene Befunde). Weibliche Gammariden wurden anhand des Vorhandenseins von Oostegiten (Abb. 8A) identifiziert, Männchen anhand der Penisapillen (Abb. 8B). Neben diesen beiden Hauptmerkmalen wurden die beiden Geschlechter auch anhand der unterschiedlichen Form des Propodus der 1. Gnathopoden sowie anhand der unterschiedlichen Beborstung des 2. Glieds der 2. Antennen unterschieden (Heinze, 1932; Goedmakers, 1972).

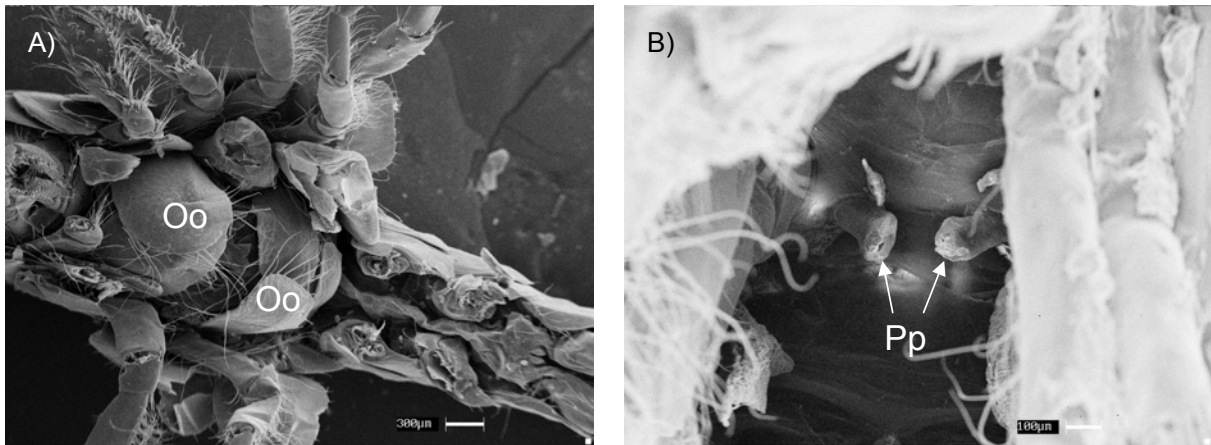


Abb. 8: Sekundäre äußere Geschlechtsmerkmale von *G. fossarum* A) Weibchen mit beborsteten Oostegiten, das Tier liegt auf dem Rücken, links befindet sich das Vorderende und rechts das Hinterende des Tieres; B) Männchen mit beiden Penisapillen; raster-elektronenmikroskopische Aufnahmen. Oo: Oostegite; Pp: Penisapille.

Daneben traten in allen untersuchten Populationen Intersexe auf. Dabei handelte es sich um Individuen, die gleichzeitig Oostegiten und Penisapillen besaßen (siehe Kap. II.3.3.3.4).

Es wurde notiert, ob befruchtete Eier, Embryonen in unterschiedlichen Entwicklungsstadien bis hin zu Juvenilen im Marsupium der Weibchen bzw. Intersexe vorhanden waren. Solche Weibchen/Intersexe werden im Folgenden zusammengefasst als brütende Weibchen/Intersexe bezeichnet.

Um die Körperlänge der Gammariden zu messen, wurde jeweils das fixierte Tier in eine Petrischale (Polystyrol, d = 5,5 cm, Merck), die mit 75 % EOH (vergällt) gefüllt war, gelegt. Mit Hilfe eines Bildverarbeitungsprogrammes (DIGITRACE, Imatec) und einer CCD-Kamera (Panasonic), die an einem Wild-Binokular (Leica) angeschlossen war, wurde das Tier digital erfasst. Fixierte Gammariden weisen eine unterschiedlich starke Krümmung der Körperlängsachse auf. Durch die Verwendung von Polylinien im Bildverarbeitungsprogramm konnten die Tiere gemessen werden, ohne sie strecken zu müssen. Die Körperlänge der Gammariden wurde von der Basis der 1. Antennen bis zum Ansatz des Telsons (entspricht dem distalen Ende des 3. Uromers) bestimmt (Franke, 1977; Ward, 1986; Dick & Elwood, 1989). Wie in Abb. 9

zu sehen ist, wurde dabei die Polylinie entlang der seitlichen Körpermittellinie der Gammariden gezogen (Schmidt, 1997).

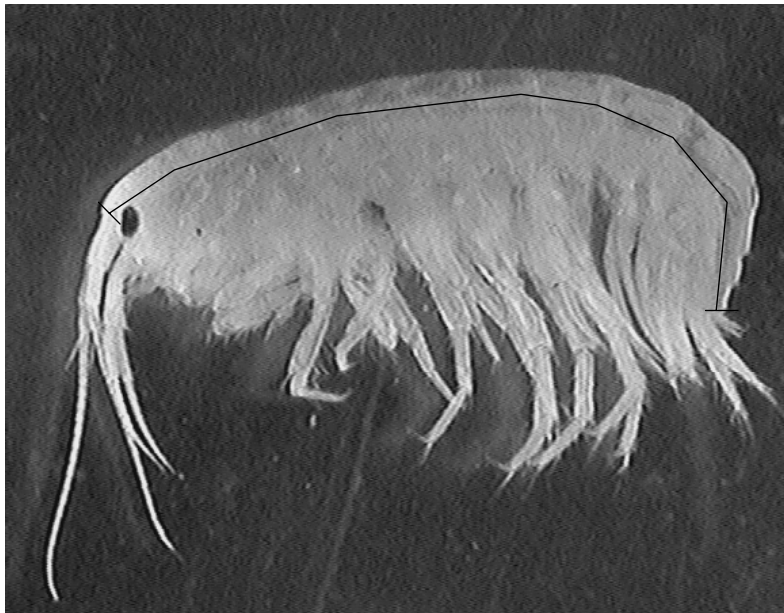


Abb. 9: Längenmessung der Gammariden.

Parasiten können beispielsweise die Empfindlichkeit ihrer Wirte gegenüber Umweltchemikalien verändern oder direkt die Ökologie der Wirtspopulation beeinflussen (Brown & Pascoe, 1989). Daher wurde der Befall mit Acanthocephalen bei adoleszenten und adulten Gammariden vermerkt.

Zusätzlich zu den genannten Parametern wurden bei den per Handfang gefangenen Tieren die Eier im Marsupium gezählt. Dafür mussten die Eier manchmal mit feinen Nadeln aus dem Marsupium herauspräpariert werden.

II.2.6.7 Rasterelektronenmikroskopie

Rasterelektronenmikroskopische Untersuchungen wurden im Institut für Zoologie der TU Dresden unter der Anleitung von Dr. Richard Fleig durchgeführt.

Einige adulte Exemplare der Gammariden aus den MOS-Sampler-Proben wurden nach ihrer Bestimmung und Vermessung für die Anfertigung von rasterelektronenmikroskopischen Aufnahmen verwendet. Die Tiere wurden mindestens 1 h in 96 % EtOH und anschließend 15 min in 100 % EtOH dehydriert. Nach Kritischer-Punkt-Trocknung wurden sie auf Objektträger für die Elektronenmikroskopie geklebt und mit Gold beschichtet. Die Präparate wurden mit einem LEO 420 Rasterelektronenmikroskop untersucht und fotografiert.

II.2.6.8 Mathematisch-statistische Methoden

Für die Berechnungen wurden die Programme EXCEL '97 und STATISTICA 5.0 verwendet. Das Verhältnis der Häufigkeit von Juvenilen zu Adulten sowie das Geschlechterverhältnis in den Populationen wurde mit Hilfe des Chi²-Tests auf signifikante Unterschiede untersucht (Köhler et al., 1995). Das Signifikanzniveau betrug $p < 0,05$. Unterschiede in der Körperlänge wurden mit dem Shapiro-Wilks-Test auf Normalverteilung geprüft ($p > 0,2$). Da die Werte nicht normalverteilt waren, wurde die Signifikanz von Unterschieden mit der Kruskal-Wallis-ANOVA und anschließend Mann-Whitney U-Test mit Bonferroni-Korrektur getestet (Zöfel, 2001). Als Signifikanzniveau wurde bei beiden Tests $p < 0,05$ festgelegt.

Die Anzahl der Eier im Marsupium ist bei Gammariden abhängig von der Größe des Weibchens (z.B. Heinze, 1932; Hynes, 1955; Birkhead & Clarkson, 1980, Pöckl, 1990, 1993a; Sutcliffe, 1993). Zur Bestimmung der Fekundität von per Handfang gesammelten Weibchen aus der Körsch wurde deshalb der Fekunditätsindex berechnet:

$$\text{Fekunditätsindex} = \text{Eizahl} / \text{Körperlänge}$$

II.3 Ergebnisse und Diskussion

II.3.1 Ergebnisse der physikalisch-chemischen Untersuchungen

In Tab. 4 sind der Median sowie Minimum und Maximum der gemessenen physikalisch-chemischen Parameter im Wasser der Probenahmestellen von Lockwitzbach und Körsch zusammengestellt. Weitere Details (Signifikanztests, zeitlicher Verlauf der Parameter etc.) können Jungmann et al. (2004a) entnommen werden. In der vorliegenden Arbeit wird auf die Ergebnisse der physikalisch-chemischen Untersuchungen nur näher eingegangen, wenn sie für die Entwicklung von Gammariden direkt oder indirekt eine Rolle gespielt haben könnten.

Tab. 4: Ausgewählte physikalisch-chemische Parameter des Wassers an den Probenahmestellen von Lockwitzbach und Körsch über den gesamten Untersuchungszeitraum der Jahre 2000 und 2001. Angabe der Messwerte: Median (Minimum; Maximum).

Parameter (Einheit)	Lockwitzbach		Körsch	
	Lo	Lu	Ko	Ku
Wassertemperatur (°C)	12,6 (6,0; 16,1)	13,1 (7,0; 15,8)	13,0 (8,0; 16,3)	14,8 (10,6; 17,4)
Sauerstoffgehalt (mg L ⁻¹)	10,1 (9,1; 11,8)	9,8 (8,2; 12,0)	9,3 (6,9; 13,7)	9,5 (7,9; 11,8)
Sauerstoffsättigung (%)	99 (91; 108)	97 (89; 106)	97 (64; 134)	98 (83; 114)
Leitfähigkeit (µS cm ⁻¹)	355 (267; 467)	589 (435; 908)	917 (711; 1725)	838 (533; 960)
pH-Wert	7,8 (6,4; 8,0)	7,7 (6,8; 8,5)	8,2 (7,7; 8,9)	8,2 (8,0; 8,6)
NH ₄ -N (mg L ⁻¹)	0,0 (0,0; 0,1)	0,1 (0,0; 14,2)	0,0 (0,0; 0,2)	0,0 (0,0; 0,34)
NO ₃ -N (mg L ⁻¹)	7,0 (4,1; 11,7)	9,8 (4,6; 14,2)	1,9 (1,1; 8,4)	6,9 (2,8; 11,1)
NO ₂ -N (mg L ⁻¹)	0,01 (0,00; 0,05)	0,03 (0,01; 0,13)	0,01 (0,00; 0,15)	0,02 (0,01; 0,09)
o-PO ₃ ⁴⁻ -P (mg L ⁻¹)	0,2 (0,10; 0,30)	0,31 (0,15; 0,79)	0,52 (0,11; 11,3)	0,94 (0,34; 3,90)
Chlorid (mg L ⁻¹)	25 (15; 41)	44 (24; 160)	64 (45; 123)	62 (39; 100)
Gesamthärte (°dH)	9 (4; 16)	15 (7; 19)	13 (8; 18)	11 (5; 17)
Carbonathärte (°dH)	4 (1; 9)	8 (5; 13)	12 (8; 18)	11 (8; 14)

Pöckl & Humpesch (1990) beschrieben einen Temperaturoptimumsbereich von 4 bis 19 °C für *G. fossarum*. Die Wassertemperatur im Lockwitzbach und in der Körsch lag innerhalb dieses Optimums, so dass unmittelbare Effekte auf das Überleben der Gammariden ausgeschlossen werden können. Verschiedene Reproduktionsvariablen sind bei Gammariden temperaturabhängig (Pöckl, 1990). Der Verlauf der Wassertemperatur an den Probenahmestellen ist in Abb. 10 wiedergegeben. Die Wassertemperatur war meist an der jeweiligen unteren Probenahmestelle höher im Vergleich zur oberen. Insgesamt betrachtet war die Wassertemperatur bei der unteren Probenahmestelle der Körsch am höchsten. Welche Konsequenzen sich aus diesen Temperaturunterschieden für die Populationsstruktur und -dynamik ergeben könnten, wird in den entsprechenden Abschnitten zu den Ergebnissen der Populationsuntersuchungen (Kap. II.3.3 und Kap. II.4) diskutiert.

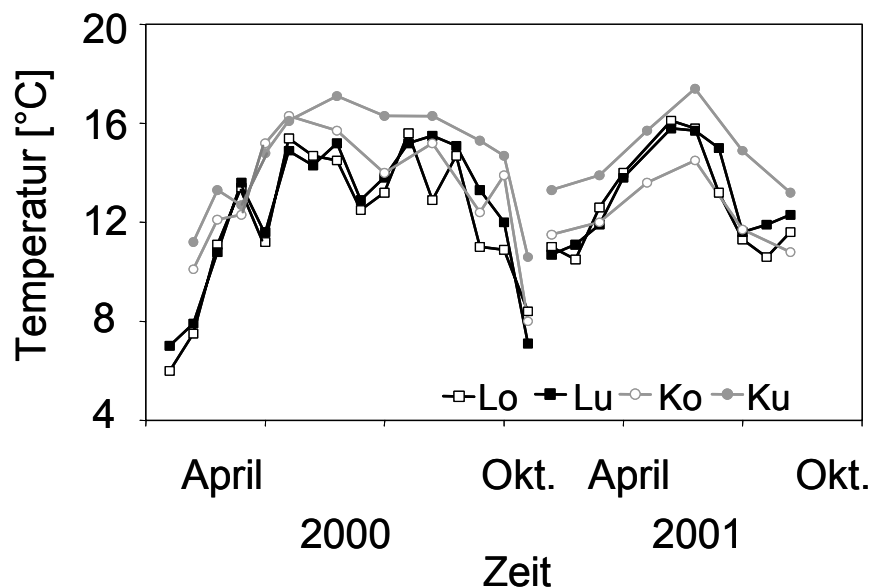


Abb. 10: Temperatur des Wassers an den Probenahmestellen. L: Lockwitzbach; K: Körsch; o: oberhalb -; u: unterhalb des Einleiters. Aus Jungmann et al. (2004a).

Sauerstoffgehalt und -sättigung, Leitfähigkeit, pH, Chloridkonzentration und Wasserhärtewerte lagen jeweils in einem Bereich, der für das Vorkommen von *G. fossarum* typisch ist (Vobis, 1973; Foeckler und Schrimpf, 1985; Pöckl, 1990).

Auch bei den Konzentrationen der gemessenen Stickstoffverbindungen wurden bis auf eine Ausnahme keine extremen Werte ermittelt, die zu einer toxischen Wirkung für Gammariden führen könnten (Foeckler und Schrimpf, 1985; Pöckl, 1993b). Einzige Ausnahme könnte die stark erhöhte Ammonium-N-Konzentration bei der unteren Probenahmestelle am Lockwitzbach am 29.08.2000 mit 14,2 mg/L gewesen sein. Im Einleiterwasser des Klärwerks wurde zum selben Datum eine Konzentration von 40 mg/L NH₄-N bestimmt. Die Rücksprache mit

den Klärwerksbetreibern ergab, dass für diese beiden hohen Werte eine Fehlfunktion des Klärwerks mit einer Dauer von ca. 48 h verantwortlich war. Ammonium steht mit Ammoniak, das für Organismen toxisch sein kann, im chemischen Gleichgewicht, das abhängig vom pH und Temperatur des Mediums ist. Über die Formel von Hamm (1991) wurde der Ammoniakanteil berechnet:

$$\text{NH}_3 = \frac{(\text{NH}_4^+ + \text{NH}_3)}{1 + 10^{(0,0918 + \frac{2,729,92}{2,73 + T}) - \text{pH}}}$$

NH_3 = Ammoniak [mg/L]

T = Wassertemperatur [°C]

$(\text{NH}_4^+ + \text{NH}_3)$ = Gesamtammonium [mg/L]

pH = pH-Wert im Gewässer

Am 29.08.2000 betrug die kalkulierte Ammoniakkonzentration an Lu 0,2 mg/L. Williams et al. (1986) gaben für die Ammoniaktoxizität bei *G. pulex* eine LC_{50} (48 h) von 2,52 mg/L an. Daher war ein akuter Effekt durch die erhöhte Ammoniakkonzentration auf die Gammariden an der unteren Probenahmestelle im Lockwitzbach unwahrscheinlich.

Die Phosphatkonzentration war unterhalb der Einleiter jeweils höher im Vergleich zur oberen Probenahmestelle. Dies trifft insbesondere bei der Korsch zu. Der zeitliche Verlauf der Phosphatkonzentration ist in Abb. 11 dargestellt.

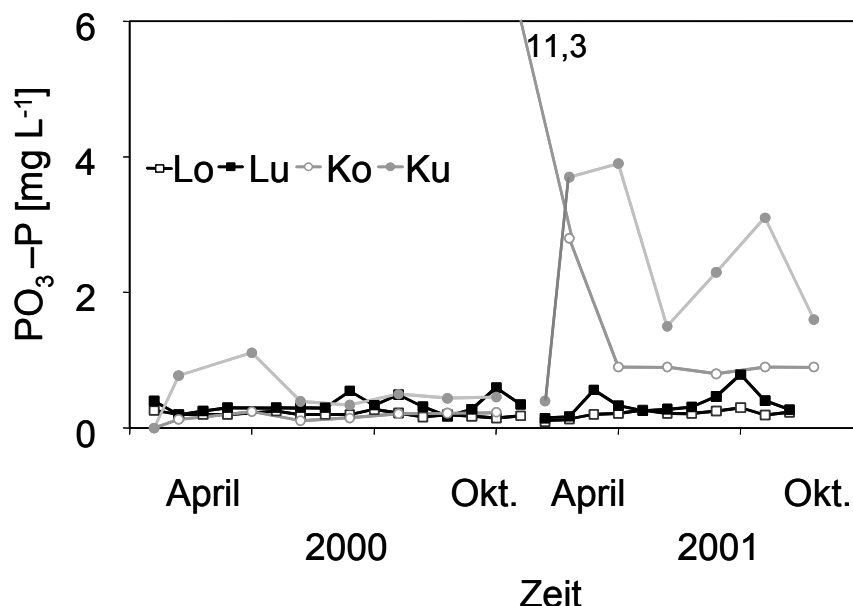


Abb. 11: Phosphatkonzentration im Wasser an den Probenahmestellen. L: Lockwitzbach; K: Korsch; o: oberhalb -; u: unterhalb des Einleiters. Aus Jungmann et al. (2004a).

Ein direkter Einfluss auf Überleben und Entwicklung der Gammariden ist vermutlich auszuschließen, da vergleichbare Konzentrationen auch von anderen Autoren in Gewässern mit *G. fossarum* beschrieben wurden (Foeckler & Schrimpf, 1985; Pöckl, 1993b). Phosphat ist für das Algenwachstum ein limitierender Faktor. Der erhöhte Phosphateintrag bei Ku könnte also vermehrtes Algenwachstum an dieser Probenahmestelle bedingt haben. Welche Rolle dies für die dortige Gammaridenpopulation spielen könnte, wird in Kap. II.4 erörtert. Für den sehr hohen Wert von 11,3 mg/L *o*-PO₃-P am 24.04.2001 an der oberen Probenahmestelle der Körsch wurde keine Erklärung gefunden.

Ein Vergleich der Ergebnisse aus den physikalisch-chemischen Untersuchungen ergab z. T. signifikante Unterschiede zwischen Lockwitzbach und Körsch (Jungmann et al., 2004a). Diese könnten sich auf die Struktur und Dynamik der Gammaridenpopulationen auswirken. Daher erscheint ein statistischer Vergleich der Populationsergebnisse zwischen den beiden Bächen wenig sinnvoll. Unterschiede der Gammaridenpopulationen zwischen den Bächen werden in Kap. II.3.3 zwar beschrieben, vor allem jedoch werden Unterschiede zwischen den Probenahmestellen pro Bach dargestellt.

II.3.2 Ergebnisse der chemischen Analytik von Umweltchemikalien mit östrogenem oder vermutetem östrogenen Potenzial

Tab. 5 gibt eine Übersicht über die mittels GC/MS nachgewiesenen Umweltchemikalien mit östrogenem oder vermutetem östrogenen Potenzial im Wasser der Probenahmestellen von Lockwitzbach und Körsch sowie im Einleiter des jeweiligen Klärwerks. Weitere Details, z. B. Nachweis- und Bestimmungsgrenzen, können Jungmann et al. (2004a) entnommen werden. In der vorliegenden Arbeit wird auf die Ergebnisse der chemischen Analytik im Xehogamm-Projekt nur näher eingegangen, wenn sie für die Entwicklung von Gammariden eine Rolle gespielt haben könnten.

Alle in dieser Untersuchung gemessenen Konzentrationen an Steroiden, Phenolen, Phthalaten und Pestiziden liegen in einem ähnlichen Bereich wie die von zahlreichen Autoren für verschiedene andere Fließgewässer und kommunale Einleiter in der Bundesrepublik Deutschland nachgewiesenen Konzentrationen (Stumpf et al., 1996; Körner, 2000; Heemken et al., 2001).

Die Belastung mit den untersuchten Substanzen war im Lockwitzbach unterhalb geringfügig höher als im Lockwitzbach oberhalb. Dies gilt auch beim Vergleich der Probenahmestellen an der Körsch, obwohl die Probenahmestelle Körsch unterhalb recht deutlich durch den Einleiter der Kläranlage beeinflusst wird.

Tab. 5: Analysierte Substanzen mit östrogener oder vermuteter östrogener Wirksamkeit im Untersuchungszeitraum des Jahres 2001 in ng/L. K: Körsch; L: Lockwitzbach; 1.te Zeile: Median; - : Median nicht berechenbar; in Klammern: Anzahl der Nachweise; n.n.: nicht nachweisbar; 2.te Zeile: min/max oder Einzelwert. Aus Jungmann et al. (2004a).

Substanz	K oberhalb	K Einleiter	K unterhalb	L oberhalb	L Einleiter	L unterhalb
Ethinylestradiol	n.n.	- (2) 2,5/5,0	- (2) 0,9/1,7	n.n.	- (1) 4,5	n.n.
ß-Estradiol	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	- (1) 7,7	n.n.
Mestranol	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
Bisphenol A	24,7 (8) 7,7/73,7	144,5 (8) 28,8/348,5	64,7 (8) 23,4/89,4	19,5 (7) 7,9/36,4	260,0 (7) 33,2/1615,5	30,6 (7) 9,8/69,7
4-tert-Octylphenol	17,6 (8) 5,6/112	15,8 (8) 8,2/41,2	17,4 (8) 6,9/92	21,0 (7) 9,3/296,3	33,9 (7) 11,0/197,4	14,0 (7) 7,0/250,4
4-Octylphenol	5,1 (4) n.n./14,3	16,35 (6) n.n./25,1	12,7 (5) n.n./16,4	- (3) n.n./15,0	10,0 (4) n.n./19,8	- (3) n.n./15,4
4-Nonylphenol	28,5 (7) n.n./38,6	35,6 (7) n.n./59,3	32,05 (7) n.n./43,0	22,2 (5) n.n./33,7	32,0 (5) n.n./71,8	29,3 (7) 21,6/36,0
Dimethylphthalat	87 (8) 30/192	64 (8) 26/134	76 (8) 26/201	99 (7) 33/332	102 (7) 41/555	64 (7) 44/191
Diethylphthalat	351 (8) 207/898	202 (8) 118/449	301 (8) 114/404	300 (7) 136/971	309 (7) 99/555	210 (7) 162/462
Dibutylphthalat	2911 (8) 919/7750	1906 (8) 733/3125	1909 (8) 910/2779	1936 (7) 470/7441	2475 (7) 1225/16574	1734 (7) 461/6517
Benzylbutylphthalat	95 (8) 37/2372	66 (8) 32/1145	71 (8) 35/725	65 (7) 26/128	119 (7) 68/31282	63 (7) 25/119
Bis(2-ethylhexyl)- phthalat	638 (8) 136/1208	548 (8) 126/1124	569 (8) 138/881	419 (7) 126/1328	540 (7) 123/866	504 (7) 117/1066
Di-n-octylphthalat	114 (8) 50/164	89 (8) 49/291	106 (8) 53/246	95 (7) 42/270	222 (7) 95/888	70 (7) 42/162
delta-HCH	n.n.	n.n.	n.n.	- (1) 5,7	n.n.	- (1) 6,3
gamma-HCH	9,0 (4) 6,2/13,2	20,7 (4) 12,6/31,5	- (3) 8,7/18,3	- (1) 6,8	- (2) 20,3/28,5	- (1) 8
beta-HCH	n.n.	8,4 (4) 4,3/12,1	- (2) 6,1/8,6	- (1) 5	- (2) 4,7/23,8	- (2) 5,5/14,9
alpha-HCH	31,2 (4) 20,3/53,3	260,4 (4) 112,0/465,9	200,9 (4) 98,6/396,4	19,1 (5) 9,8/25,6	114,5 (5) 15,2/236,3	22,6 (5) 9,2/40,9
Heptachlor	- (2) 10,5/29,7	- (1) 28,2	- (1) 27,4	n.n.	- (1) 16,5	n.n.
Aldrin	n.n.	- (1) 19,2	n.n.	n.n.	- (2) 26,7/34,9	- (1) 25,6
Dieldrin	- (2) 14,4/20,2	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	- (1) 15,7
Chlordane (Summe)	19,2 (4) 2,0/66,5	- (3) 3,4/27,6	12,4 (4) 2,6/26,3	- (2) 3,2/57,6	- (3) 5,5/43,4	- (3) 4,7/29,5
Endosulfan	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
DDE	n.n.	- (1) 34,0	n.n.	- (1) 36,3	- (1) 38,8	- (1) 37,7
DDD	- (1) 29,2	- (3) 25,8/28	- (1) 28,2	- (1) 33,6	- (2) 29,9/33,8	- (2) 30,0/30,2
DDT	- (1) 43,5	- (1) 45,5	- (1) 41,7	- (1) 45,7	n.n.	- (1) 45,0
Methoxychlor	- (1) 22,6	n.n.	n.n.	- (1) 28,2	- (1) 26,5	- (1) 25,6
Heptachlorepoxyde	n.n.	- (1) 13,1	n.n.	- (1) 10,5	- (1) 38,1	- (1) 10,1

Den quantitativ geringen Unterschieden bezüglich der Belastung zwischen den Probenahmestellen unterhalb und oberhalb der Einleiter bei beiden Bächen standen qualitative Unterschiede gegenüber. Beim Vergleich der Bäche (Tab. 5) zeigt sich innerhalb der Pestizide, dass Heptachlorepoxyd, Aldrin, DDE sowie γ -HCH ausschließlich am Lockwitzbach vorkamen und Heptachlor nur in der Körsch und im Einleiter des Klärwerks am Lockwitzbach nachgewiesen werden konnte.

Die Probenahmestelle Ku war im Vergleich zu allen anderen Probenahmestellen mit einigen Substanzen (Ethinylöstradiol, Bisphenol A und α -HCH) stärker belastet (Tab. 5).

Der Nachweis von Bisphenol A war einer der Gründe, weshalb es als zu prüfende Substanz im später durchgeführten Fließrinnenexperiment ausgewählt wurde (s. Kap. III.2.4.1). Wegen des Einsatzes von Bisphenol A im Fließrinnenexperiment werden in Abb. 12 die Konzentrationen dieser Umweltchemikalie im Wasser der Probenahmestellen im Untersuchungszeitraum 2001 detailliert gezeigt.

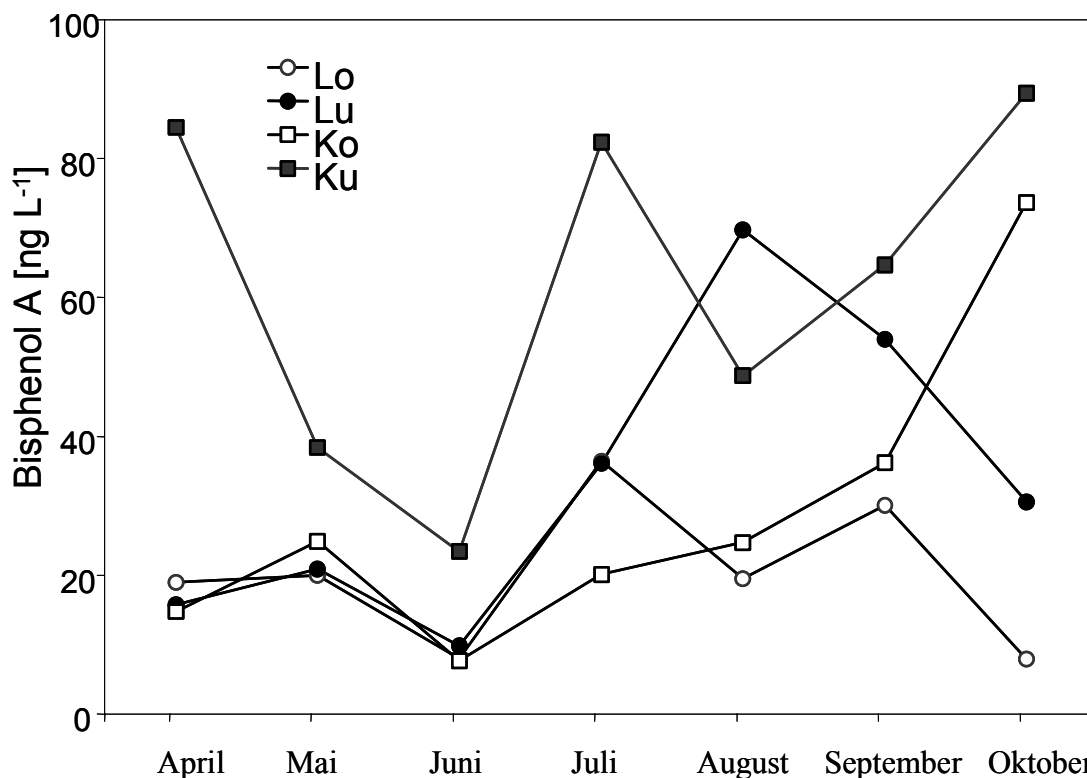


Abb. 12: Konzentration von Bisphenol A im Wasser der Probenahmestellen im Untersuchungsjahr 2001. L: Lockwitzbach; K: Körsch; o: oberhalb -; u: unterhalb des Einleiters.

Anhand von für die Substanzen bekannten Östradioläquivalenten und den jeweiligen gemessenen Konzentrationen wurde in Jungmann et al. (2004a) das östrogene Potenzial des Gemisches im Wasser der Probenahmestellen berechnet (Tab. 6).

Tab. 6: Östrogenäquivalente für die Probenahmestellen in 2001. In Klammern: ohne Ethinylöstradiol. Modifiziert nach Jungmann et al. (2004a). L: Lockwitzbach; K: Körsch; o: oberhalb -; u: unterhalb des Einleiters.

	Lo	Lu	Ko	Ku
Östrogenäquivalent	0,12	0,11	0,07	2,47 (0,08)

Auf Grundlage aller analysierten Substanzen ergibt sich ein 22 bis 35 x höheres östrogenes Potenzial an der Probenahmestelle Ku im Vergleich zu den anderen Probenahmestellen. Dieses deutlich höhere Potenzial ist auf das an Ku nachgewiesene Ethinylöstradiol zurückzuführen, das an zwei Probenahmeterminen (19.06. und 14.08.2001) nachgewiesen werden konnte. Bezieht man Ethinylöstradiol nicht mit in die Betrachtung ein, ähnelte sich das östrogene Potenzial an allen Probenahmestellen (0,07 - 0,12). Da Ethinylöstradiol jedoch offensichtlich in die Körsch eingeleitet wird und in 25 % der analysierten Wasserproben von Ku nachgewiesen wurde, kann man von einem erhöhten östrogenen Potenzial an Ku ausgehen.

II.3.3 Populationsuntersuchungen an Gammariden

Es werden die Ergebnisse für die jeweilige untersuchte populationsrelevante Variable für Lockwitzbach und Körsch getrennt dargestellt und diskutiert. Dabei werden Unterschiede zwischen den beiden Untersuchungsjahren sowie saisonale Unterschiede herausgestellt. Insbesondere werden die beiden Probenahmestellen der jeweiligen Bäche miteinander verglichen, um etwaige Einflüsse durch die Einleitungen aus Klärwerken zeigen zu können. Anschließend werden beide Bäche hinsichtlich der jeweiligen Variable qualitativ, jedoch nicht quantitativ miteinander verglichen. In Kap. II.2.4 wurde auf die Problematik eines solchen Vergleichs eingegangen.

II.3.3.1 Abundanz von Gammariden

Die Anzahl der Gammariden in einer Probe wurde mit der Größe der Beprobungsfläche in Beziehung gesetzt und daraus die Abundanz als Anzahl der Gammariden pro m² berechnet.

II.3.3.1.1 Abundanzen von *G. fossarum* im Lockwitzbach

In Tab. 7 sind die Anzahlen der Gammariden in den Proben, die Anzahlen der davon untersuchten Gammariden und die berechneten Abundanzen der Populationen im Lockwitzbach aufgelistet. Insgesamt wurden 5.853 Gammariden aus dem Lockwitzbach untersucht, davon 2.344 von der Probenahmestelle oberhalb des Einleiters aus dem Klärwerk (Lo) und 3.509

von der Probenahmestelle unterhalb des Einleiters aus dem Klärwerk (Lu). Mit Ausnahme der Lu-Probe vom September 2001 wurden beim Lockwitzbach jeweils alle gefundenen Gammariden hinsichtlich verschiedener populationsrelevanter Parameter untersucht. Die Beprobungsfläche ergab sich ab der Probenahme im August 2000 jeweils aus der Bachbreite des Transekts und den Maßen des MOS-Samplers (50x50 cm). Da in den ersten Monaten des Projekts die Bachbreite des Transekts nicht gemessen worden war, wurde für die Berechnung der Abundanzen in diesen Monaten eine Bachbreite von 4 m zugrunde gelegt (gemessen an einer anderen Stelle im Bereich der Probenahmestelle Lo).

Tab. 7: Probengröße und Abundanz der untersuchten Gammaridenpopulationen im Lockwitzbach. Lo: Probenahmestelle oberhalb des Einleiters; Lu: Probenahmestelle unterhalb des Einleiters.

Datum	Lo			Lu		
	Anzahl in Probe	n untersucht	Abundanz [Ind./m ²]	Anzahl in Probe	n untersucht	Abundanz [Ind./m ²]
14.04.00	89	89	45	46	46	23
27.04.00	9	9	5	12	12	6
23.05.00	12	12	6	108	108	54
20.06.00	29	29	15	24	24	12
18.07.00	11	11	6	53	53	27
15.08.00	107	107	78	111	111	58
12.09.00	185	185	108	105	105	55
12.10.00	43	43	25	695	695	348
24.04.01	61	61	24	67	67	16
21.05.01	18	18	7	159	159	80
20.06.01	130	130	51	215	215	112
18.07.01	85	85	37	522	522	261
14.08.01	337	337	189	340	340	296
12.09.01	383	383	161	802	401	401
10.10.01	845	845	384	651	651	260

Pro Probenahme wurden im Jahr 2001 mehr Gammariden als im Jahr 2000 gefangen. Grund dafür war eine leichte Modifizierung der Probenahme, indem das Transekt nicht mehr wie im 1. Untersuchungsjahr zufällig ausgewählt wurde, sondern für *G. fossarum* typische Habitate berücksichtigt wurden. Dadurch ergab sich eine größere Datenbasis für anschließende Berechnungen für das Jahr 2001 im Vergleich mit dem Jahr 2000. Aufgrund der veränderten Beprobungsmethode im Jahr 2001 werden im Folgenden die Ergebnisse aus dem Jahr 2000 nicht mit denen aus dem Jahr 2001 statistisch verglichen.

Der saisonale Verlauf der Abundanzen im Jahr 2000 (Abb. 13 oben) zeigte nur an der unteren Probenahmestelle im Oktober einen höheren Wert verglichen mit den Vormonaten. Hierbei handelte es sich hauptsächlich um eine erhöhte Anzahl an Adulten. Ein Grund könnte das verbesserte Nahrungsangebot im Herbst sein, da Gammariden ins Gewässer eingetragenes Falllaub als Nahrung nutzen (Gee, 1982). Der Laubeintrag wurde nicht quantitativ erfasst.

Jedoch war zu diesem Zeitpunkt an beiden Probenahmestellen viel Laub im Gewässer vorhanden. Gammariden weisen eine sehr ungleichmäßige Verteilung im Gewässer auf. Sie sind vor allem in Laubansammlungen, Algen und Erlenwurzeln zu finden (Pöckl, 1993a; eigene Beobachtungen). Im Oktober waren nur bei Lu Erlenwurzeln im beprobten Transekt enthalten, in denen sich viele Gammariden aufhielten. Im Beprobungstransekt bei Lo waren hingegen keine Erlenwurzeln bei dieser Probenahme vorhanden. Der Unterschied in der Abundanz zwischen beiden Probenahmestellen im Oktober könnte folglich durch die Beprobung unterschiedlicher Habitate bedingt sein.

Im Jahr 2001 (Abb. 13 unten) war die Abundanz an der unteren Probenahmestelle in den meisten Untersuchungsmonaten höher als an der oberen Probenahmestelle. Die Gesamtabundanz an Gammariden nahm an beiden Probenahmestellen im Laufe des Sommers zu, weil die Abundanz an Juvenilen zunahm. Die hohe Abundanz an Juvenilen lässt sich damit erklären, dass im Spätsommer der Juvenilenanteil sich aus den Juvenilen, die in den Vormonaten geboren wurden, sowie den im Spätsommer geborenen Tieren zusammensetzte.

Im Oktober war bei beiden Probenahmestellen zusätzlich die Abundanz der Adulten hoch. An der oberen Probenahmestelle handelte es sich bei den beprobten Habitaten vor allem um Sand und Wurzelwerk. Bei einer stichprobenhaften, semiquantitativen Überprüfung der Abundanz mit einem Küchensieb an anderen Stellen bei Lo am selben Probenahmetermin wurden hingegen nur wenig Gammariden gefunden. Folglich führte vermutlich die Wahl des zu beprobenden Habitats (insbesondere Wurzeln) zu der hohen Abundanz. Wurzeln im Beprobungstransekt waren wahrscheinlich auch der Grund für die hohe Abundanz der Gammariden an der unteren Probenahmestelle im September. Im Oktober wurden hier jedoch an verschiedenen Stellen, nicht nur im Beprobungstransekt, viele adulte und juvenile Gammariden gefunden. Daher war im Oktober 2001 bei Lu nicht die Wahl des Transekts für die Beprobung ausschlaggebend für die hohe ermittelte Abundanz, sondern andere Faktoren, möglicherweise das Nahrungsangebot durch Falllaub im Bach, waren dafür verantwortlich.

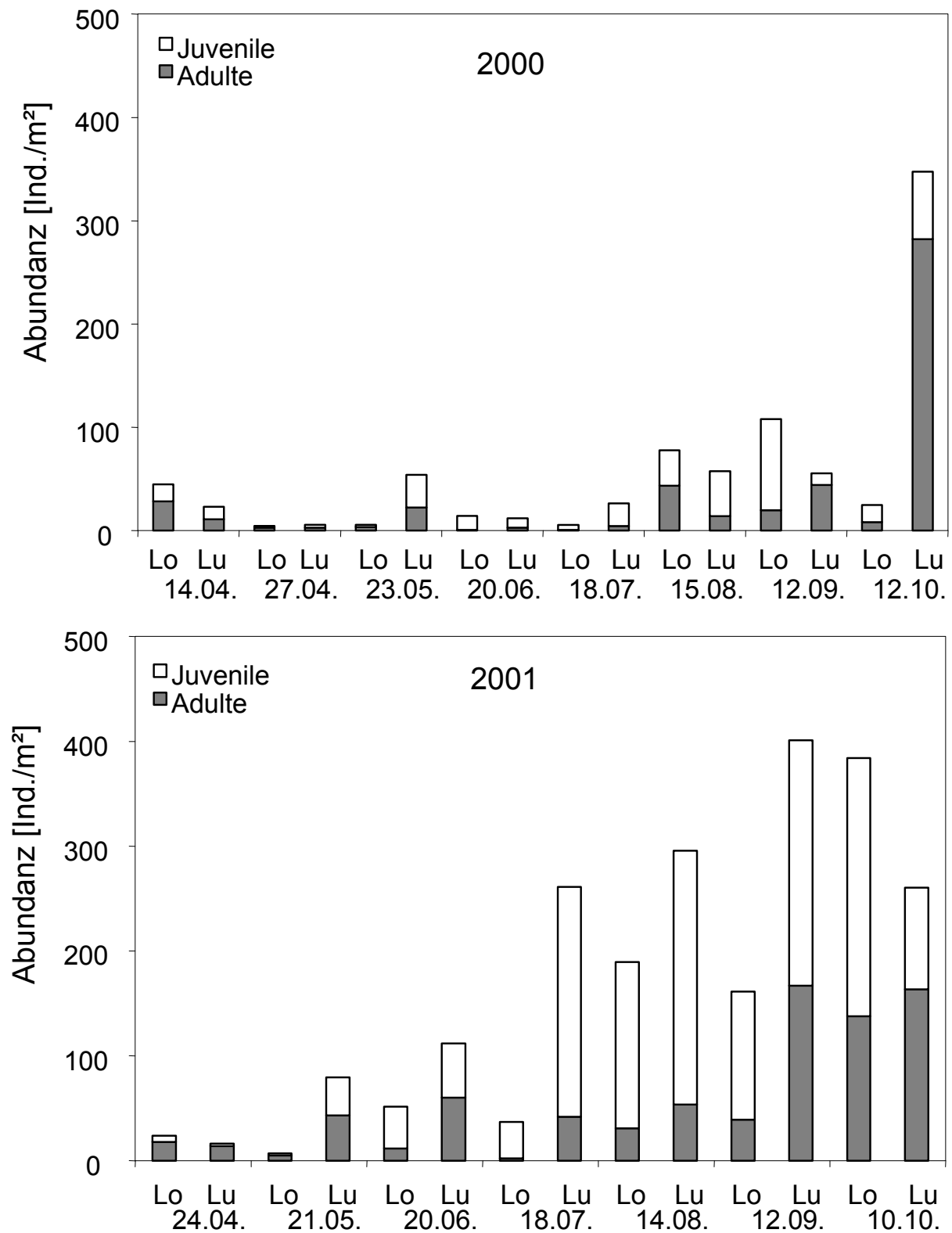


Abb. 13: Abundanzen von juvenilen und adulten *G. fossarum* im Lockwitzbach in den Jahren 2000 und 2001. Lo: Probenahmestelle oberhalb des Einleiters; Lu: Probenahmestelle unterhalb des Einleiters.

II.3.3.1.2 Abundanzen von Gammariden in der Körsch

Bei der Körsch wurden insgesamt 6.560 Gammariden hinsichtlich populationsrelevanter Parameter untersucht, davon 2.361 von der Probenahmestelle oberhalb des Einleiters (Ko) und 4.199 von der Probenahmestelle unterhalb des Einleiters aus dem Klärwerk (Ku). In Tab. 8 sind die Anzahlen der Gammariden in den Proben, die Anzahlen der davon untersuchten Gammariden und die berechneten Abundanzen der Populationen in der Körsch zusammengestellt.

Tab. 8: Probengröße und Abundanz der untersuchten Gammaridenpopulationen in der Körsch. Ko: Probenahmestelle oberhalb des Einleiters; Ku: Probenahmestelle unterhalb des Einleiters.

Datum	Ko			Ku		
	Anzahl in Probe	n untersucht	Abundanz [Ind./m ²]	Anzahl in Probe	n untersucht	Abundanz [Ind./m ²]
25.04.00	70	70	93	1984	248	2645
06.06.00	90	90	120	730	730	973
04.07.00	144	144	192	1504	376	2005
01.08.00	67	67	89	303	303	404
29.08.00	72	72	96	4824	603	6432
26.09.00	80	80	107	1192	149	1589
24.10.00	396	198	528	2264	566	3019
23.04.01	714	714	952	538	269	717
17.07.01	343	343	457	1872	234	2496
13.09.01	313	313	417	1500	375	2000
11.10.01	270	270	360	2768	346	3691

Bei der Körsch betrug die Abundanz von Gammariden an der unteren Probenahmestelle sowohl im Jahr 2000 als auch im Jahr 2001 pro Probenahme bis auf eine Ausnahme jeweils das Vielfache der Abundanz an der oberen Probenahmestelle. Die Ausnahme war die Probenahme im April 2001, bei der mit 952 (Ko) bzw. 717 Individuen pro m² (Ku) eine ähnliche Populationsdichte vorlag. Die höchste Abundanz betrug über 6.000 Individuen pro m² (Ku 29.08.2000). Ähnlich hohe Abundanzen von Gammariden wurden auch in anderen Studien gefunden. Meijering (1972a) fand eine Abundanz von ca. 3.600 Individuen pro m² bei *G. fossarum*. Obrdlík (1972) beschrieb Abundanzen von *G. fossarum* zwischen <100 und 5.700 Individuen pro m². Für *G. pulex* wurden sogar Abundanzen von 820 bis 10.000 Individuen pro m² ermittelt (Welton, 1979). Auch Pöckl (1993a) wies auf hohe Besiedlungsdichten von Gammariden mit mehreren Tausend Individuen pro m² hin.

Der saisonale Verlauf im Jahr 2000 (Abb. 14 oben) zeigte bei der oberen Probenahmestelle der Körsch eine etwas höhere Anzahl an Adulten und Juvenilen im Oktober als in den Vormonaten, der Grund hierfür ist unbekannt. An der unteren Probenahmestelle war keine saisonale Tendenz erkennbar. Die hohe Gesamtabundanz der Gammariden Ende August 2000 basierte auf der großen Zahl an Juvenilen (Abb. 14 oben).

Im Unterschied zum Lockwitzbach wurden bei der Körsch im Untersuchungszeitraum des Jahres 2001 aus Zeitgründen nur Proben von einigen ausgewählten Monaten analysiert. Dabei handelte es sich um die April- und Herbstproben. Diese wurden ausgewählt, um die Populationssergebnisse mit den histologischen und biochemischen Befunden im Xehogamm-Projekt vergleichen zu können. Außerdem wurden die Juliprobe ausgewertet, um mögliche saisonale Unterschiede zu erfassen.

Der saisonale Verlauf im Jahr 2001 ist in Abb. 14 (unten) dargestellt. An der oberen Probenahmestelle blieb die Abundanz der Adulten im Saisonverlauf gleich, die Anzahl der Juvenilen nahm zum Herbst hin ab. An der unteren Probenahmestelle war die Abundanz der Adulten und damit die Gesamtabundanz im Oktober höher als in den Vormonaten. Im Beprobungstransect waren Erlenwurzeln vorhanden, die zu diesem Ergebnis geführt haben könnten.

II.3.3.1.3 Vergleich der Abundanz in beiden Bächen

Mit mehreren Hundert Individuen pro m² entsprach die Abundanz an der unteren und teilweise auch an der oberen Probenahmestelle am Lockwitzbach etwa der an der oberen Probenahmestelle an der Körsch. Im Gegensatz dazu wies die untere Probenahmestelle an der Körsch in den meisten Monaten weit größere Abundanzen von über 1.000 Individuen pro m² auf.

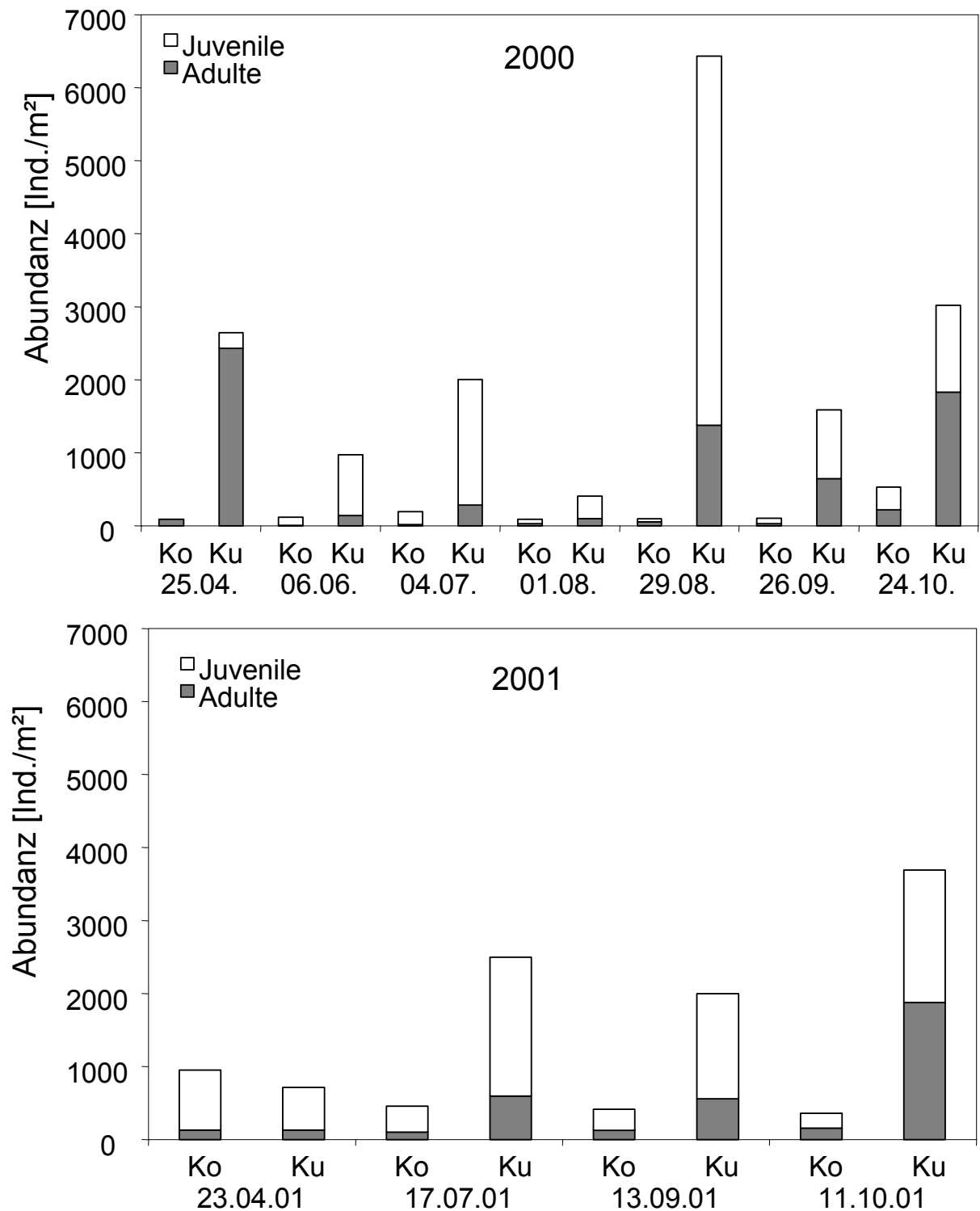


Abb. 14: Abundanzen von juvenilen und adulten Gammariden in der Körsh in den Jahren 2000 und 2001. Ko: Probenahmestelle oberhalb des Einleiters; Ku: Probenahmestelle unterhalb des Einleiters.

II.3.3.2 Vorkommen von *Gammarus pulex*

II.3.3.2.1 Vorkommen von *G. pulex* im Lockwitzbach

Im Lockwitzbach wurden keine Individuen von *G. pulex* gefunden. Bei den beiden untersuchten Gammaridenpopulationen im Lockwitzbach handelte es sich um reine *G. fossarum*-Populationen.

II.3.3.2.2 Vorkommen von *G. pulex* in der Körsch

In den untersuchten Populationen wurden neben *G. fossarum*-Tieren auch Männchen und Weibchen von *G. pulex* gefunden. Mischpopulationen von *G. fossarum* und *G. pulex* wurden auch von Meijering (1971) und Janetzky (1994) beschrieben. Die Artbestimmung ist sicherer bei den Männchen als bei den Weibchen durchzuführen. Außerdem war der prozentuale Anteil der *G. pulex*-Weibchen an der Gesamtheit der Weibchen in der jeweiligen Population generell ähnlich oder niedriger als der prozentuale Anteil der *G. pulex*-Männchen an der Gesamtheit der Männchen. Deshalb wird im Folgenden nur der Anteil der *G. pulex*-Männchen dargestellt.

Im Jahr 2000 betrug der Anteil der *G. pulex*-Männchen insgesamt 8,2 % (Ko) bzw. 1,1 % (Ku). In Abb. 15 ist zu sehen, dass in diesem Jahr nicht in allen Proben *G. pulex*-Männchen vorkamen, dagegen in allen Proben vom Jahr 2001. Im Jahr 2001 war der Anteil der *G. pulex*-Männchen bei Ku mit insgesamt 7,9 % signifikant höher als bei Ko (2,9 %) (Chi²-Test, $p < 0,05$). Dieser Unterschied war als Trend auch bei der Betrachtung der Einzelmonate erkennbar (Abb. 15). Über beide Untersuchungszeiträume gesehen, schwankte der Anteil der *G. pulex*-Männchen zwischen 0 und 14 %. Die einzige Ausnahme bildete die Probe im April 2000 bei Ko mit 28,6 %. Hierbei handelte es sich nicht um eine saisonale Abhängigkeit, da im folgenden Jahr die Aprilprobe bei Ko einen ähnlichen Anteil der *G. pulex*-Männchen aufwies wie die anderen Proben. Der Grund für diese Ausnahme ist unbekannt.

Im Gegensatz zur vorliegenden Untersuchung traten bei einigen von Meijering (1971) untersuchten Populationen jahreszeitliche Schwankungen mit einem Maximum im *G. pulex*-Anteil im Herbst auf. Das Maximum resultierte dabei jeweils aus dem erhöhten Anteil der *G. pulex*-Männchen. Ebenso war der Anteil der *G. pulex*-Weibchen in der Probe bei Ko im April 2000 mit 14,7 % niedriger als der Anteil der *G. pulex*-Männchen (28,6 %) in dieser Probe. Besonders in organisch belasteten Gewässern kommt es zu pulsierenden Ausbreitungstendenzen von *G. pulex* durch Aufwanderung adulter Tiere in Bachabschnitte mit *G. fossarum*-Populationen im Laufe des Sommerhalbjahrs und Abdrift von *G. pulex* im Winter (Hynes, 1955; Meijering, 1971).

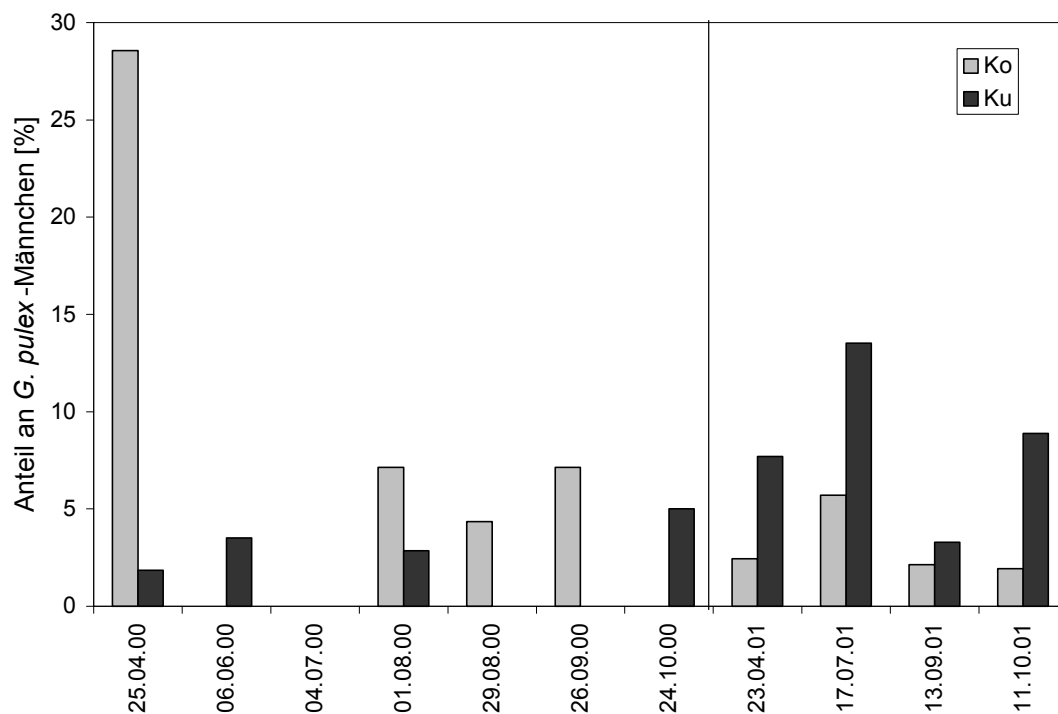


Abb. 15: Anteil der *G. pulex*-Männchen in der Korsch in den Jahren 2000 und 2001. Ko: Probenahmestelle oberhalb des Einleiters; Ku: Probenahmestelle unterhalb des Einleiters.

Verglichen mit einigen Populationen in der Studie von Meijering (1971) war der Anteil an *G. pulex* in den beiden Korschpopulationen relativ gering und zeigte keine großen Schwankungen. Bei Meijering (1971) lag dagegen die Schwankungsbreite des *G. pulex*-Anteils an verschiedenen Probenahmeterminen innerhalb einer Population zwischen 0 und 83 %.

Individuen der beiden verschiedenen Gammaridenarten können sich miteinander paaren. Diese Form der Präkopula ist aber im Freiland nur selten zu finden (Roux, 1971). Wie Kreuzungsexperimente ergaben, werden die Eier befruchtet. Nach einigen Zellteilungen sterben diese Eier jedoch ab. Arthybride treten daher nicht auf (Wautier & Roux, 1959; Roux, 1971; Meijering, 1972b).

In den folgenden Abschnitten wurden sowohl die *G. pulex*-Männchen als auch die *G. pulex*-Weibchen aus den Berechnungen und Darstellungen für die Korsch ausgeschlossen. Insbesondere ist dies wichtig beim Vergleich der Körperlängen, da *G. pulex* größer wird als *G. fossarum* (Schellenberg, 1942, Ludwig, 1993). Nicht korrigiert werden können die Berechnungen des Juvenilenanteils in den Populationen sowie die Darstellung der Körperlänge von Juvenilen, da die Juvenilen noch nicht artspezifisch voneinander unterschieden werden können.

II.3.3.3 Geschlechterverhältnis und Intersexualität bei *G. fossarum*

II.3.3.3.1 Geschlechterverhältnis bei *G. fossarum* im Lockwitzbach

Das Geschlechterverhältnis von *G. fossarum* im Lockwitzbach im Jahr 2000 ist in Abb. 16 dargestellt. Die Gammariden wurden in den ersten Monaten des Projekts nicht auf das Vorkommen von Intersexualität untersucht (Daten aus Metag, 2000). Erst ab Juli 2000 wurde jedes adoleszente oder adulte Tier hinsichtlich des Vorhandenseins beider Geschlechtsmerkmale (Oostegiten und Penisapillen) untersucht, so dass erst ab diesem Zeitpunkt mögliche Intersexualität detektiert werden konnte. Im Juli 2000 wurden sicherlich aufgrund des zu geringen Probenumfangs (Lo: n = 2; Lu: n = 9 Adoleszente und Adulte) keine Intersexe gefunden, ansonsten jedoch in allen anderen daraufhin untersuchten Proben vom Lockwitzbach.

Insgesamt wurden im Jahr 2000 von der oberen Probenahmestelle 71 Männchen, 101 Weibchen und 13 Intersexe untersucht. Von der unteren Probenahmestelle waren es 259 Männchen, 451 Weibchen und 53 Intersexe.

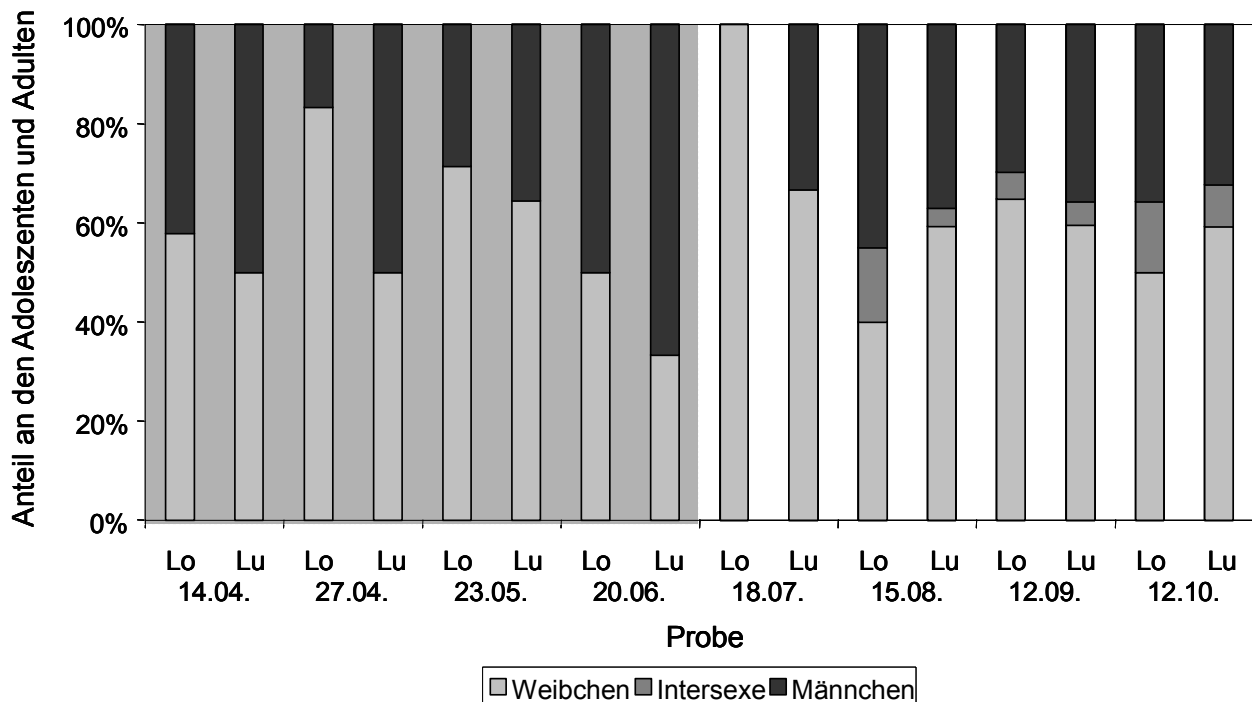


Abb. 16: Geschlechterverhältnis bei *G. fossarum* im Lockwitzbach im Jahr 2000. Grauer Hintergrund: Diese Proben wurden nicht auf das Vorkommen von Intersexualität hin untersucht. Lo: Probenahmestelle oberhalb des Einleiters; Lu: Probenahmestelle unterhalb des Einleiters.

Insgesamt betrug das Verhältnis zwischen Männchen und Weibchen 1:1,4 (Lo) bzw. 1:1,7 (Lu) (gepoolte Daten). In 6 von 8 Probenahmeterminen überwog auch in den einzelnen Monaten im Jahr 2000 in der Population oberhalb des Einleiters der Anteil der Weibchen gegenüber dem der Männchen. Das war auch in 5 von 8 Proben von der unteren Probenahmestelle der Fall. Eine saisonale Abhängigkeit war hierbei nicht zu erkennen (Abb. 16). Laut Meijering (1971) beträgt das Verhältnis von Männchen zu Weibchen etwa 1:1. Theoretisch wäre bei einer monofaktoriellen genetischen Geschlechtsdetermination von einem Geschlechterverhältnis von 1:1 auszugehen (Bulnheim, 1972). Diese konnte jedoch in der Literatur nicht belegt werden, da bei Gammariden generell keine Geschlechtschromosomen nachgewiesen werden konnten (Sutcliffe, 1992; Ausnahme: *Anisogammarus annandalei*, Niiyama, 1950). Vielmehr wird eine polyfaktorielle genetische Geschlechtsdetermination bei Gammariden diskutiert (Traut, 1962; Bulnheim, 1972; Legrand et al., 1987; Sutcliffe, 1992). Abweichungen vom erwarteten Geschlechterverhältnis von 1:1 wurden auch in anderen Freilandpopulationen von Gammariden festgestellt. Lehmann (1967) fand im Sommer große Schwankungen im Geschlechterverhältnis beim Vergleich verschiedener Populationen von *G. fossarum*, im Winter überwogen stets die Männchen. Das aus seinen Angaben errechnete Verhältnis von Männchen zu Weibchen lag bei verschiedenen Populationen im Juni zwischen 1:0,03 und 1:1,2. Teichmann (1982) fand in seiner im Sommerhalbjahr durchgeführten Analyse von Frühling bis Sommer ein leichtes Überwiegen der Weibchen und im Herbst einen hohen Anteil an Männchen. Bei Obrdlík (1972) überwogen hingegen saisonal unabhängig generell die Männchen.

Der Anteil der Intersexe an den adoleszenten und adulten Gammariden betrug ab August 2000 5,4 - 15 % (Lo) bzw. 3,7 - 8,5 % (Lu) (Abb. 16). Insgesamt waren ab August im Jahr 2000 im Lockwitzbach an der oberen Probenahmestelle tendenziell prozentual mehr Intersexe im Vergleich zur unteren Probenahmestelle vorhanden (Lo: 11,5 % bzw. Lu: 7,7 %).

In Abb. 17 ist das Geschlechterverhältnis von *G. fossarum* im Jahr 2001 dargestellt. Im Jahr 2001 wurden an der oberen Probenahmestelle insgesamt 194 Männchen, 292 Weibchen und 61 Intersexe erfasst. An der unteren Probenahmestelle wurden insgesamt 346 Männchen, 574 Weibchen und 62 Intersexe bestimmt. Auch im Jahr 2001 waren im Lockwitzbach Weibchen häufiger in den Populationen vertreten als Männchen. Das Verhältnis zwischen Männchen und Weibchen betrug insgesamt 1:1,5 (Lo) bzw. 1:1,7 (Lu). Auch in 4 von 7 einzelnen Probenahmeterminen bei Lo bzw. in allen Monaten bei Lu war der Anteil der Weibchen in der Population höher als der Anteil der Männchen (Abb. 17).

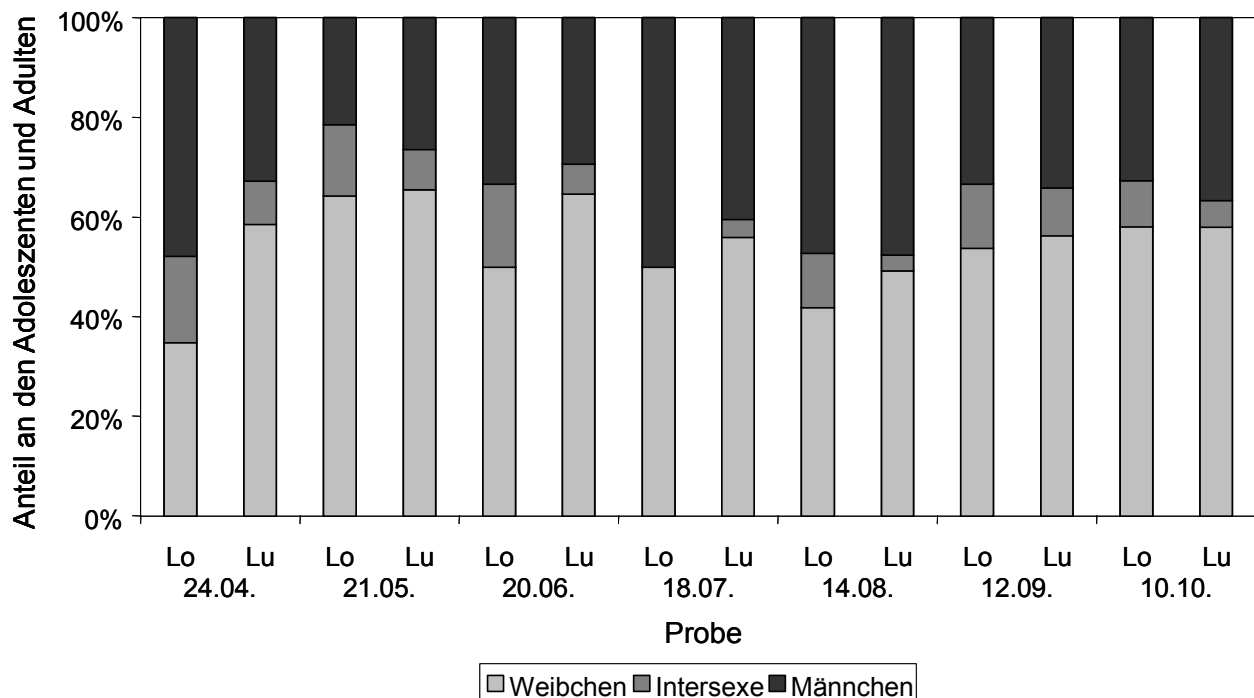


Abb. 17: Geschlechterverhältnis bei *G. fossarum* im Lockwitzbach im Jahr 2001. Lo: Probenahmestelle oberhalb des Einleiters; Lu: Probenahmestelle unterhalb des Einleiters.

Der Anteil der Intersexe an den adoleszenten und adulten Gammariden schwankte im Jahr 2001 zwischen 9,2 und 17,4 % (Lo) bzw. zwischen 3,3 und 9,6 % (Lu). Einzige Ausnahme war die Probe im Juli an der oberen Probenahmestelle. In dieser Probe wurden keine Intersexe gefunden, was sicherlich an dem zu geringen Probenumfang von $n = 6$ adoleszenten oder adulten Tieren lag. Im Gegensatz zum Verhältnis zwischen Männchen und Weibchen unterschied sich der Intersexanteil insgesamt im Jahr 2001 zwischen den Probenahmestellen signifikant. An der oberen Probenahmestelle waren prozentual signifikant mehr Intersexe im Vergleich zur unteren Probenahmestelle vorhanden (Lo = 11,2 % zu Lu = 6,3 %) (Chi²-Test, $p < 0,05$).

Beide Untersuchungsjahre ähnelten sich somit in den Anteilen der einzelnen Geschlechter in den Gammaridenpopulationen.

Ein Einfluss des Einleiters des Klärwerks auf das Geschlechterverhältnis im Lockwitzbach lag nicht vor.

II.3.3.3.2 Geschlechterverhältnis bei *G. fossarum* in der Körsch

Das Geschlechterverhältnis bei *G. fossarum* in der Körsch im Jahr 2000 gibt Abb. 18 wieder. Im Jahr 2000 wurden bei der oberen Probenahmestelle an der Körsch 134 Männchen, 106

Weibchen und 2 Intersexe von *G. fossarum* erfasst. An der unteren Probenahmestelle wurden insgesamt 503 Männchen, 472 Weibchen und 4 Intersexe dieser Spezies bestimmt. Das Verhältnis zwischen Männchen und Weibchen betrug insgesamt 1:0,8 (Ko) bzw. 1:0,9 (Ku). Auch an 4 von 7 (Ko) bzw. 5 von 7 (Ku) Probenahmeterminen war der Anteil der Männchen jeweils höher als der Anteil der Weibchen (Abb. 18). Eine saisonale Abhängigkeit bestand nicht.

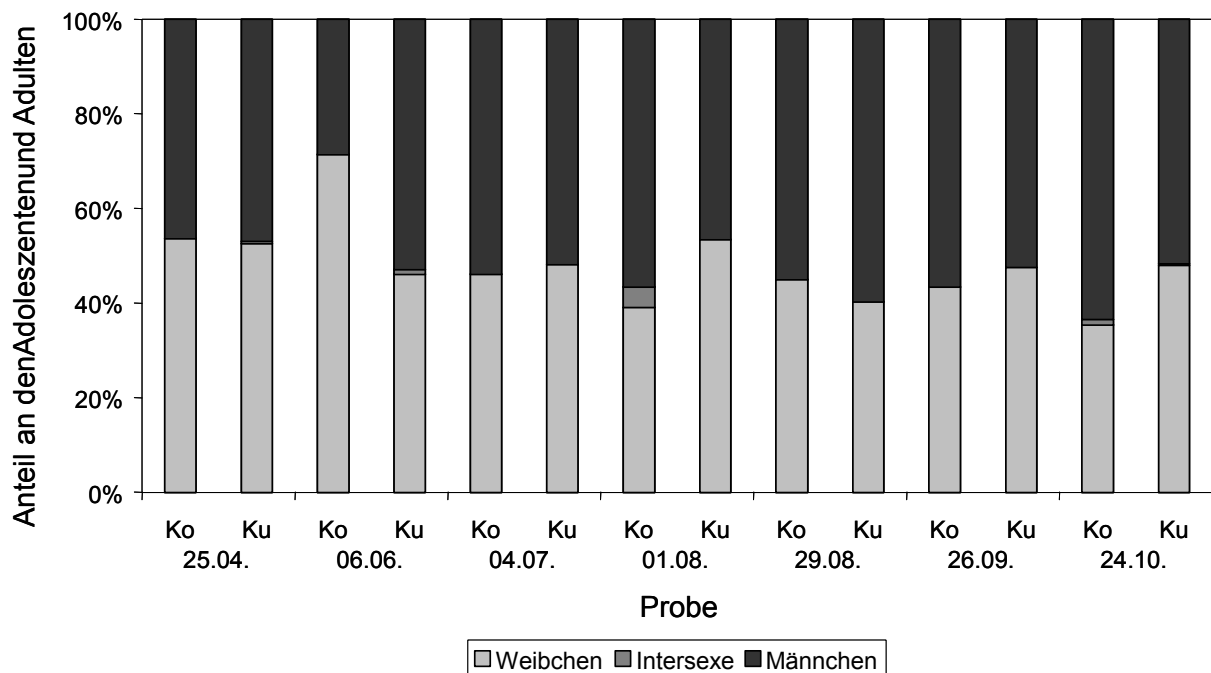


Abb. 18: Geschlechterverhältnis bei *G. fossarum* in der Körsch im Jahr 2000. Ko: Probenahmestelle oberhalb des Einleiters; Ku: Probenahmestelle unterhalb des Einleiters.

Intersexe wurden nur vereinzelt in den beiden Gammaridenpopulationen in der Körsch gefunden. Ihr Anteil betrug maximal 4,3 % (Ko am 01.08.2000) bzw. 1,0 % (Ku am 06.06.2000). Insgesamt war der Intersexanteil im Jahr 2000 zwischen den Populationen in der Körsch nicht signifikant unterschiedlich (Ko: 0,8 % bzw. Ku: 0,4 %) (χ^2 -Test, $p < 0,05$).

Im Jahr 2001 wurden in den jeweils 4 untersuchten Proben bei Ko insgesamt von *G. fossarum* 170 Männchen und 215 Weibchen bzw. bei Ku insgesamt 197 Männchen, 164 Weibchen und 1 Intersex bestimmt. Das Verhältnis zwischen Männchen und Weibchen war insgesamt signifikant unterschiedlich zwischen den beiden Probenahmestellen (χ^2 -Test, $p < 0,05$). Es betrug im Jahr 2001 bei Ko 1:1,3 bzw. bei Ku 1:0,8. Zu allen 4 Probenahmeterminen wurden an der oberen Probenahmestelle prozentual mehr Weibchen im Vergleich zur unteren Probenahmestelle gefunden (Abb. 19). Diese Tendenz war monatlich betrachtet nur im Juli signifikant (χ^2 -Test, $p < 0,05$). Das Geschlechterverhältnis im Jahr 2001 ähnelte folglich nur an der unteren Probenahmestelle dem an beiden Probenahmestellen im Vorjahr.

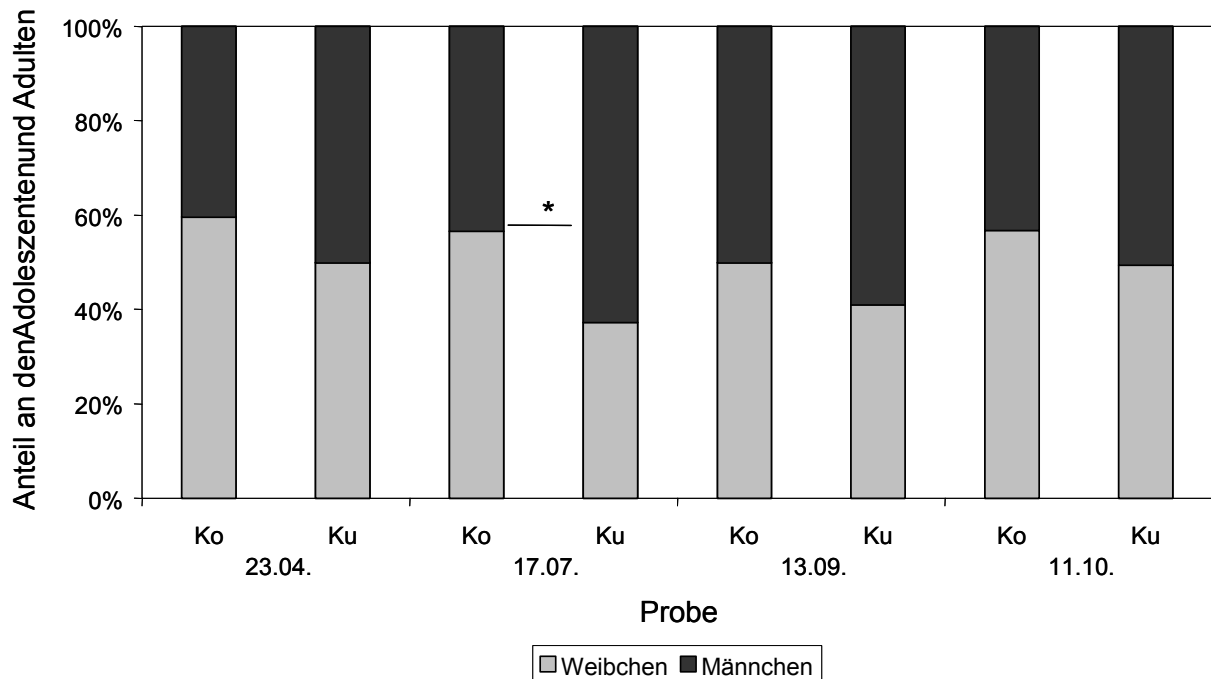


Abb. 19: Geschlechterverhältnis bei *G. fossarum* in der Körsch im Jahr 2001. Intersexanteil nicht dargestellt, da nur ein einziges Intersex gefunden wurde. Ko: Probenahmestelle oberhalb des Einleiters; Ku: Probenahmestelle unterhalb des Einleiters; *: signifikant verschieden mit $p < 0,05$.

Das einzige Intersex-Exemplar, das im Jahr 2001 bei der Körsch gefunden wurde, stammte aus der Probe von der unteren Probenahmestelle im September. Dies führte bei Ku insgesamt zu einem ähnlichen Anteil der Intersexe wie im Vorjahr von 0,3 %.

Die einzige Abweichung im allgemeinen Trend, dass der Anteil der Männchen in den Populationen überwog, trat nur bei Ko und nur im Jahr 2001 auf. Daher kann davon ausgegangen werden, dass kein Einfluss des Einleiters auf diese populationsrelevante Variable vorlag.

II.3.3.3.3 Vergleich des Geschlechterverhältnis in beiden Bächen

In beiden Untersuchungsjahren überwogen im Lockwitzbach die Weibchen in den Gammari-populationen. Im Gegensatz dazu waren im Jahr 2000 und bei Ku auch im Jahr 2001 prozentual mehr Männchen als Weibchen in den Populationen in der Körsch vorhanden.

II.3.3.3.4 Intersexualität bei *G. fossarum*

Intersexualität ist das gleichzeitige Vorkommen von sowohl männlichen als auch weiblichen Geschlechtsmerkmalen bei Individuen einer gonochoristischen (getrenntgeschlechtlichen) Spezies. Das Phänomen ist bei Crustaceen weit verbreitet (z.B. Munro, 1953; Ginsburger-Vogel, 1975; Legrand et al., 1987; Moore & Stevenson, 1991; Sangalang & Jones, 1997). Bei Gammariden wurden Intersexe bei *G. chevreuxi* (Sexton & Huxley, 1921), *G. fasciatus* (= *G. tigrinus*) und *G. pulex* (Hynes, 1955), *G. pungens padanus* (Maccagno & Cuniberti, 1956), *G. pulex subterraneus* (Anders, 1957), *G. duebenii* (Bulnheim, 1965; Dunn et al., 1994; Kelly et al., 2004), *G. lacustris* (Ökland, 1969), *G. pseudolimnaeus* (Hynes & Harper, 1972), *G. minus* (Buikema et al., 1980) und *Echinogammarus marinus* (Ford et al., 2003a) beschrieben.

Intersexe wurden im Rahmen der Promotion in allen untersuchten Populationen bei *G. fossarum* gefunden und für diese Tierart erstmals publiziert (Ladewig et al., 2002). *G. pulex*-Intersexe wurden nicht gefunden. Die Intersexe bei *G. fossarum* besaßen die für die Bildung des Marsupiums notwendigen Oostegiten (weibliche sekundäre Geschlechtsmerkmale) sowie eine oder zwei Penisapillen (typische männliche sekundäre Geschlechtsmerkmale) (Abb. 20).

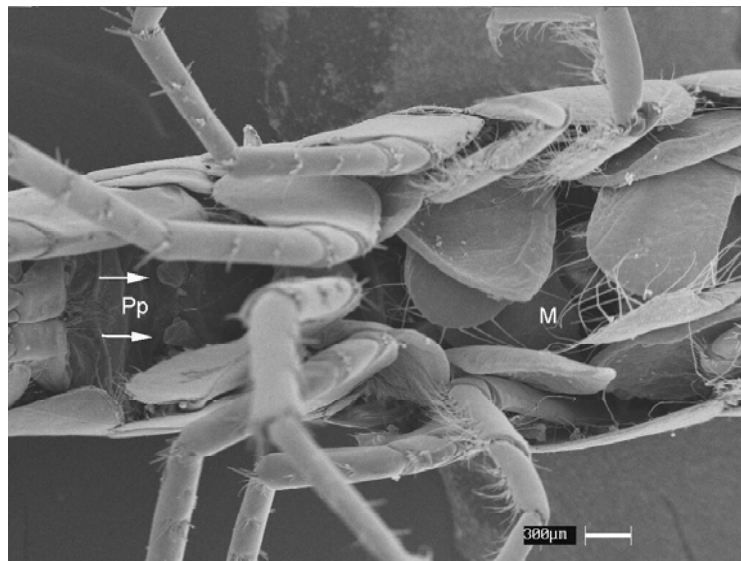


Abb. 20: Rasterelektronenmikroskopische Aufnahme eines Intersex von *Gammarus fossarum*. Das Tier liegt auf dem Rücken, rechts befindet sich das Vorderende und links das Hinterende des Tieres. M: Marsupium, durch beborstete Oostegiten gebildet; Pp: Penisapillen zwischen dem letzten Peräopodenpaar.

Die Oostegiten bzw. Penisapillen von Intersexen glichen in Größe und Aussehen denen bei Weibchen bzw. Männchen. Gleiches berichteten Dunn et al. (1994) von Intersexen bei *G. duebenii*. Bei *G. pseudolimnaeus* (Hynes & Harper, 1972), *G. pulex* und *G. fasciatus* (Hynes,

1955) besaßen Intersexe reduzierte Oostegiten, bei *G. minus* waren die Penisapillen von Intersexen nur etwa halb so groß wie die bei den Männchen (Buikema et al., 1980).

In Präkopula-Paaren nehmen Intersexe von *G. fossarum* ausschließlich die weibliche Position ein (eigene Beobachtungen und Petzsch, 2002). Teilweise trugen sie Eier oder vereinzelt auch Juvenile im Marsupium. In histologischen Präparaten der Gonaden von Intersexen aus dem Lockwitzbach, die von M. Schirling und A. M. I. Köhler angefertigt und ausgewertet wurden, wurde ausschließlich Ovariengewebe gefunden (Ladewig et al., 2002). Es handelte sich bei den Intersexen folglich um funktionelle Weibchen. Dies stimmt mit den Ergebnissen von Buikema et al. (1980) bei *G. minus* überein. Dunn et al. (1994) beschrieben bei einer britischen Population von *G. duebenii* Intersexe, die funktionelle Weibchen waren, jedoch gleichzeitig Ovarien- und Testisgewebe besaßen. Hingegen klassifizierte Bulnheim (1965) Intersexe einer deutschen Population von *G. duebenii* in 5 verschiedene Typen. Nur der stark weibliche Intersex-Typ war zur Reproduktion fähig, die anderen Typen waren infertil. Ford et al. (2003a) beschrieben zwei Typen von Intersexen bei *Echinogammarus marinus*: Der weibliche Typ war ein funktionelles Weibchen, die Funktion des männlichen Typs ist unbekannt. Intersexe von *G. lacustris* nahmen in Präkopulapaaren sowohl die weibliche als auch die männliche Position ein (Mehli, 1973). Maccagno & Cuniberti (1956) beschrieben bei *G. pungens padanus* Intersexe, die männliche äußere sekundäre Geschlechtsmerkmale und abnorme Gonaden mit Spermatozyten und Oozyten aufwiesen. Intersexe von *G. fasciatus*, *G. pulex* (Hynes, 1955) und *G. pseudolimnaeus* (Hynes & Harper, 1972) wurden von den Autoren als funktionelle Männchen angesehen.

In beiden Bächen wurden z. T. Intersexe mit nur 1 Penisapille gefunden (Tab. 9). Dieses Phänomen wurde auch bei anderen Gammaridenarten beschrieben (Bulnheim, 1965; Buikema et al., 1980; Kelly et al., 2004; Ford et al., eingereicht). Im Gegensatz dazu wurden Männchen mit nur einer Penisapille nur bei *G. fossarum* im Lockwitzbach (Tab. 9 und Ladewig et al., 2002) sowie bei *G. lacustris* (eigene, unveröffentlichte Beobachtung) nachgewiesen. Pro Bach war der Anteil von Intersexen mit nur 1 Penisapille bei den Intersexen signifikant größer im Vergleich zum Anteil an Männchen mit nur 1 Penisapille bei den Männchen (Chi²-Test, $p < 0,05$).

Beim Lockwitzbach waren an der oberen Probenahmestelle schwach signifikant prozentual mehr Männchen mit nur 1 Penisapille vorhanden als an der unteren (Chi²-Test, $p = 0,04$). Sowohl Intersexe mit einer als auch mit 2 Penisapillen konnten brüten und können daher als funktionelle Weibchen angesehen werden.

Tab. 9: Individuen von *G. fossarum* mit 1 Penisapille. Lo/Ko: Probenahmestelle oberhalb des Einleiters; Lu/Ku: Probenahmestelle unterhalb des Einleiters.

Geschlecht	Probenahmestelle	Gesamtanzahl	Individuen mit 1 Penisapille	
			Anzahl	Prozent
Intersexe	Lo	74	27	36,5
	Lu	115	36	31,3
	Lockwitzbach gesamt	189	63	33,3
Männchen	Lo	237	3	1,3
	Lu	571	1	0,2
	Lockwitzbach gesamt	808	4	0,5
Intersexe	Ko	2	1	50
	Ku	5	1	20
	Körsch gesamt	7	2	28,6
Männchen	Ko	331	0	0
	Ku	700	0	0
	Körsch gesamt	1031	0	0

Neben den Geschlechtsmerkmalen, die normalerweise nur bei einem Geschlecht vorhanden sind, gibt es andere Strukturen, die ebenfalls Geschlechtsdimorphismus bei Gammariden zeigen. So unterscheidet sich z.B. die Form der 1. Gnathopoden zwischen männlichen und weiblichen Gammariden. Intersexe von *G. fossarum* besaßen meist weibliche 1. Gnathopoden. Nur 4 Intersexe hatten 1. Gnathopoden mit intermediärem Aussehen, d.h. mit weder eindeutig männlichem noch eindeutig weiblichem Aussehen. Vier weitere Intersexe wiesen eindeutig männliche 1. Gnathopoden auf. Die Intersexe mit männlichen 1. Gnathopoden (mit 1 oder 2 Penisapillen) trugen keine Eier im Marsupium, obwohl sie aufgrund Körperlänge und Jahreszeit fähig zum Brüten gewesen wären. Ob es sich bei diesem Befund wegen der geringen Anzahl dieser Tiere um Zufall handelt, oder ob diese Tiere unfruchtbar waren, ist unbekannt.

Wie in Abb. 21 zu sehen ist, waren Gammaridenweibchen im Lockwitzbach signifikant kleiner als Intersexe mit 1 bzw. 2 Penisapillen sowie Männchen. Ford et al. (eingereicht) beschrieben ähnliche Unterschiede bei *Echinogammarus marinus*: Weibchen waren signifikant leichter als Intersex-Weibchen mit 1 bzw. 2 Penisapillen und Männchen. Die von ihnen beschriebenen Intersex-Männchen waren schwerer als normale Männchen. Dunn et al. (1994) fanden keine signifikanten Gewichtsunterschiede zwischen Weibchen und Intersexen bei *G. duebenii*. Im Gegensatz dazu beschrieben Kelly et al. (2004) bei einer anderen Population dieser Gammaridenart, dass Intersexe schwerer als Weibchen werden. Die Befunde dieser drei Publikationen können mit der vorliegenden verglichen werden, da es eine signifikante positive Korrelation zwischen der Körperlänge und dem Gewicht von Gammariden gibt (Pöckl, 1990).

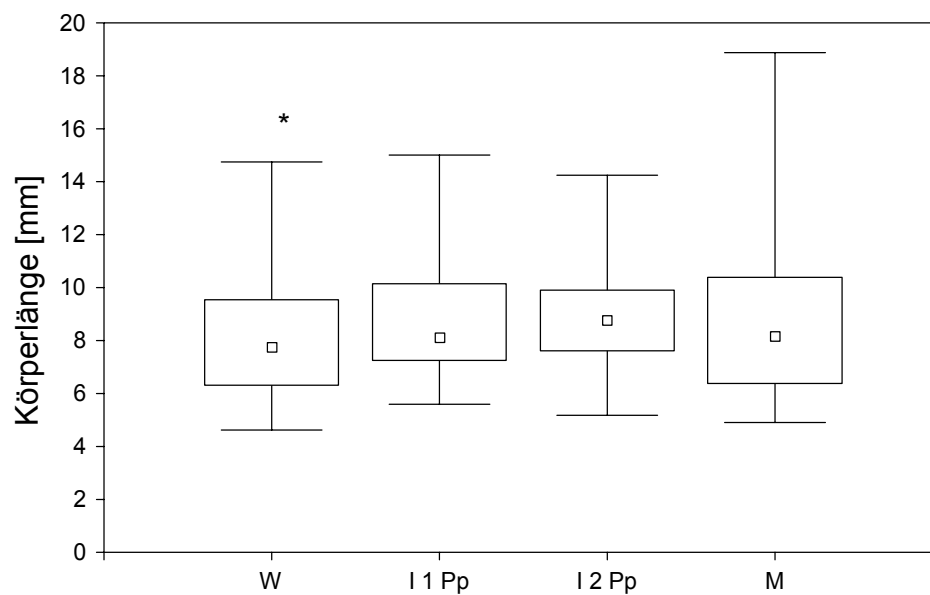


Abb. 21: Körperlänge bei unterschiedlichen Geschlechtern von *G. fossarum* im Lockwitzbach (gepoolte Daten). Dargestellt sind Median, 25-75%-Perzentile, Minimum und Maximum. W: Weibchen; I 1 Pp bzw. I 2 Pp: Intersexe mit 1 bzw. 2 Penisapillen; M: Männchen; *: signifikanter Unterschied zu allen anderen Geschlechtern mit $p < 0,0083$.

Der Grund für die Größenunterschiede zwischen Weibchen und Intersexen in natürlichen Populationen von *G. fossarum* ist unbekannt. In den natürlichen Populationen konnte eine Altersbestimmung nicht durchgeführt werden. Es könnte daher sein, dass Intersexe in diesen Populationen besonders groß sind, weil die Wahrscheinlichkeit der Induktion von Intersexualität mit zunehmendem Alter, d.h. längerer Exposition gegenüber dem noch unbekannten auslösenden Faktor, zunimmt.

Im aktiven Effektmonitoring-Experiment an der Probenahmestelle oberhalb des Einleiters beim Lockwitzbach wurden Gammariden aus dem Goldersbach exponiert. Alle eingesetzten Gammariden waren etwa 6 mm groß (mit Hilfe einer aus Millimeterpapier angefertigten Schablone vermessen). In Abb. 22 sind die Unterschiede der Körperlänge zwischen den verschiedenen Geschlechtern im aktiven Effektmonitoring-Experiment nach verschiedener Expositionsdauer dargestellt. Körperlängen von Intersexen mit 1 und mit 2 Penisapillen wurden für diese Darstellung gepoolt, da nur wenig Intersexe zur Verfügung standen. Auch bei Differenzierung dieser Intersexe bleibt dasselbe Muster bestehen (nicht gezeigt).

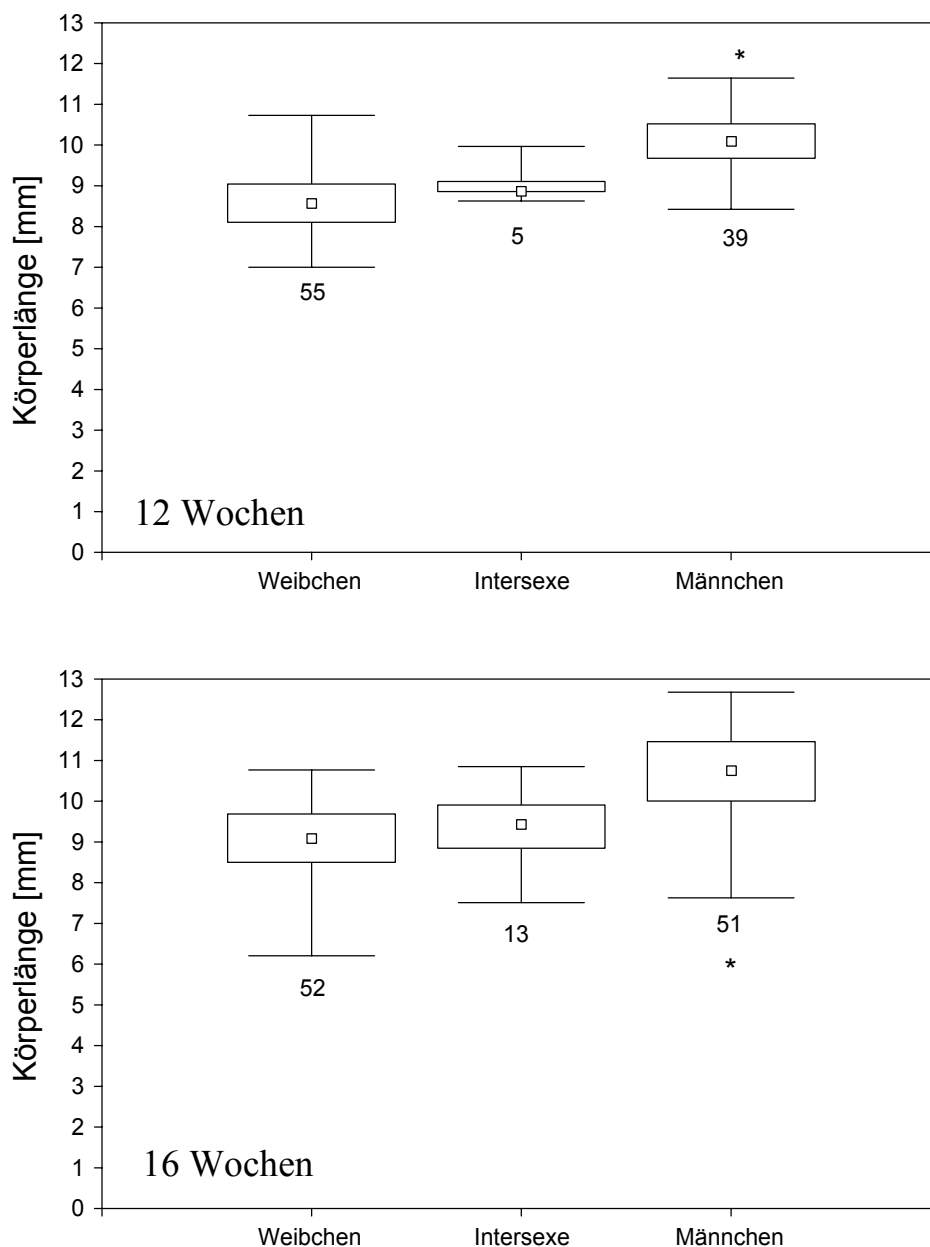


Abb. 22: Körperlänge bei unterschiedlichen Geschlechtern von *G. fossarum* im aktiven Effektmontoring-Experiment im Lockwitzbach nach 12 und 16 Wochen Exposition. Dargestellt sind Median, 25-75%-Perzentile, Minimum und Maximum sowie die jeweilige Anzahl von Gammariden pro Geschlecht. *: signifikanter Unterschied zu allen anderen Geschlechtern mit $p < 0,0167$.

Sowohl nach 12 als auch nach 16 Wochen Exposition waren Männchen im jeweiligen „Cage“ signifikant größer im Vergleich zu Weibchen und Intersexen (Kruskal-Wallis-ANOVA mit anschließendem Mann-Whitney U-Test mit Bonferroni-Korrektur, $p < 0,0167$). Bei gleicher Körperlänge zu Beginn der Exposition und Dauer der Exposition ähneln sich also die Körperlängen von Intersexen und Weibchen.

Die Zunahme der mittleren Körperlängen mit fortschreitender Dauer der Exposition in den „Cages“ ist dem Wachstum der Tiere zuzuschreiben. Eventuelle Unterschiede in der Mortalität der Geschlechter konnten nicht miteinbezogen werden. Abb. 23 zeigt eine höhere Wachstumsrate, ersichtlich an der größeren Steigung der Regressionskurve, der Männchen im Vergleich zu den Weibchen und Intersexen im „Caging“-Experiment.

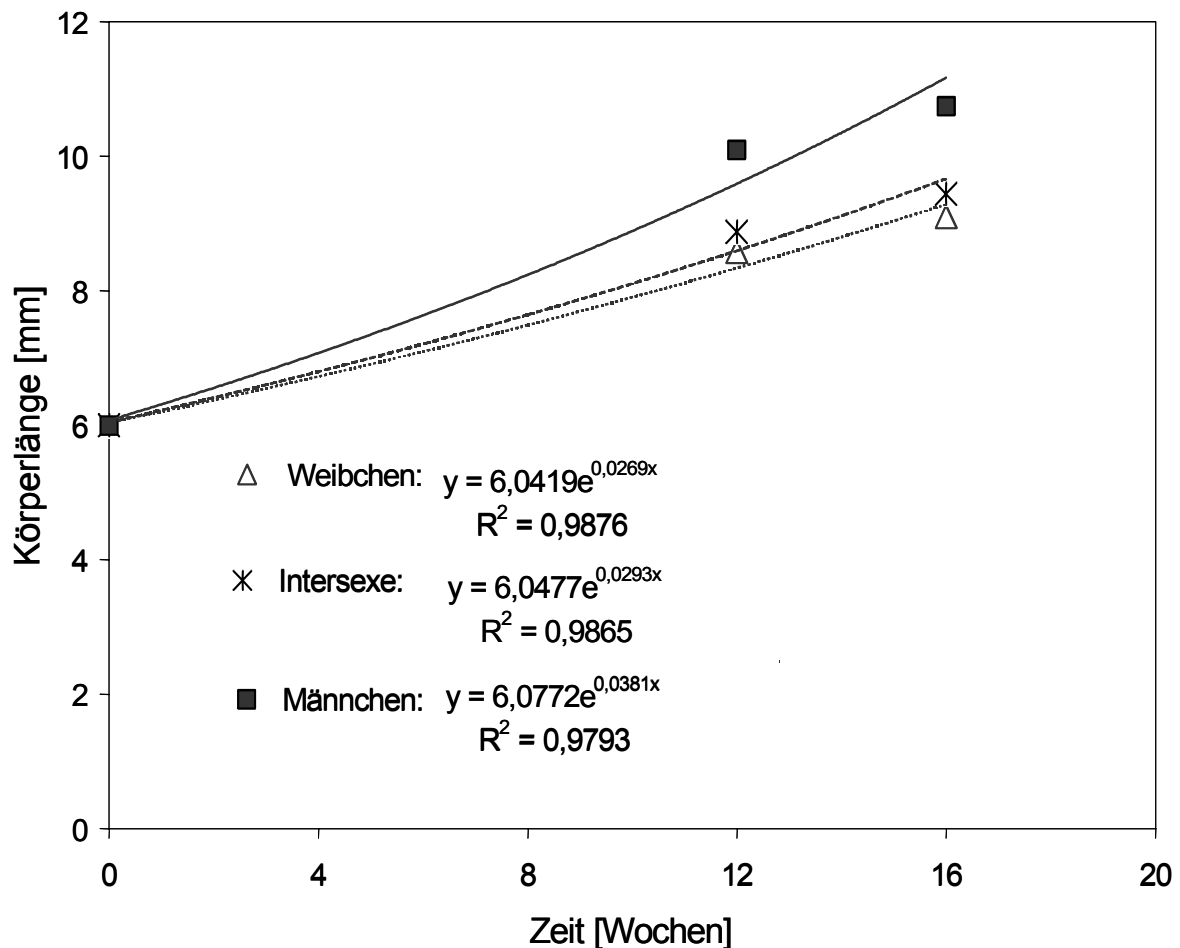


Abb. 23: Zunahme der Körperlänge bei verschiedenen Geschlechtern von *G. fossarum* im aktiven Effektmonitoring-Experiment im Lockwitzbach. Die Körperlänge betrug bei allen Tieren zu Beginn des Experiments etwa 6 mm. Dargestellt sind außerdem der jeweilige Medianwert nach Exposition sowie mittels Exponentialfunktion berechnete Regressionskurven und deren Bestimmtheitsmaß R^2 .

Dass Männchen schneller wachsen als Weibchen, ist bei Gammariden bekannt (Nilsson, 1977; Pöckl, 1990). Intersexe bei *G. fossarum* scheinen hinsichtlich ihrer Wachstumsrate den Weibchen zu ähneln.

Ob es sich bei den Intersexen von *G. fossarum* um genetische Männchen oder genetische Weibchen handelt, ist unbekannt. Die Geschlechtsdetermination bei Gammariden ist laut Lite-

ratur durch ein polyfaktorielles System von verschiedenen, unbekannten Geschlechtsgenen fixiert (Sutcliffe, 1992). Bei männlichen Amphipoden entwickelt sich aus der Anlage der androgenen Drüse eine funktionsfähige androgene Drüse, die das androgene Drüsenhormon (AGH) produziert. AGH von Isopoden wurde bereits isoliert und als Peptidhormon charakterisiert (Hasegawa et al., 1993). Durch dieses Hormon wird das zunächst undifferenzierte Gonadengewebe zu Testes und die sekundären männlichen Geschlechtsmerkmale werden gebildet. Weibchen fehlt AGH. Durch Autodifferenzierung entwickelt sich bei ihnen das Gonadengewebe zu Ovarien. Von den Ovarien produzierte Hormone sorgen für die Ausbildung von sekundären weiblichen Geschlechtsmerkmalen (Charniaux-Cotton, 1960). In Amphipoden kontrolliert POH („permanent ovarian hormone“) die Ausbildung von Oostegiten und TOH („temporary ovarian hormone“) die Beborstung der Oostegiten (Charniaux-Cotton & Payen, 1985). Eine chemische Charakterisierung von POH und TOH wurde bisher nicht durchgeführt. Charniaux-Cotton (1960) konnte in ihren Versuchen mit *Orchestia gammarella* (Talitridae) zeigen, dass andrektomisierte Männchen sich nach 1-2 Häutungen zu fertilen Weibchen entwickeln. Umgekehrt führte die Implantation einer androgenen Drüse in ein Weibchen nach 1-2 Häutungen zu einem infertilen Männchen, da dessen *vas deferens* nicht vollständig ausgebildet ist.

In Jungmann et al. (2004a und 2004b) ist eine Korrelationsanalyse mit allen im Rahmen des Projektes erhobenen Daten (eigene Daten und Daten von Petzsch, 2002) durchgeführt worden. Daraus ergab sich eine negative Korrelation zwischen dem Anteil der Intersexe und dem Anteil der Männchen. Da im Lockwitzbach der Anteil der Intersexe hoch war, war der Anteil an Männchen gesunken, d.h. das Geschlechterverhältnis war zugunsten der Weibchen verschoben. In der Körsch kam Intersexualität nur vereinzelt vor, entsprechend war der Anteil an Männchen im Jahr 2000 und bei Ku im Jahr 2001 höher als im Lockwitzbach. Für den niedrigen Anteil der Männchen an der oberen Probenahmestelle bei der Körsch im Jahr 2001 konnte keine Erklärung gefunden werden. Im aktiven Effektmonitoring-Experiment lag zumindest in dem 12 Wochen exponierten „Cage“ das Geschlechterverhältnis eindeutig auf Seiten der Weibchen (Abb. 22). Aufgrund dieser Ergebnisse wurde im Rahmen des Projekts die Hypothese aufgestellt, dass Intersexe von *G. fossarum* genetische Männchen sein könnten. Ford et al. (2003a) gehen bei Intersexen von *Echinogammarus marinus* ebenfalls von einer Feminisierung von genetischen Männchen aus.

Der Proximatafaktor, der Intersexualität bei Gammariden auslöst, ist unbekannt. Als Auslöser werden diskutiert: Parasitismus (Bulnheim, 1965; Kelly et al., 2004), Photoperiode (Dunn et al., 1990 und 1996) und Umweltverschmutzung (Ford et al., 2003a).

Es bestand kein Zusammenhang zwischen dem Anteil von mit *Polymorphus minutus* (Acanthocephala) infizierten Gammariden und dem Intersexanteil in verschiedenen Populationen von *G. fossarum* (Ergebnisse dieser Studie und Petzsch, 2002). Auch Microsporidien wurden

nicht nachgewiesen (M. Schirling, pers. Mitteilung). Von bestimmten Microsporidienarten (bei *G. duebenii*) und dem sogenannten epigenetischen feminisierenden Faktor (bei *Orchestia gammarella*) wurde ein temperaturabhängiger, feminisierender Einfluss auf Amphipoden beschrieben (Ginsburger-Vogel, 1975; Bulnheim, 1975 und 1978). Eine Korrelation zwischen der Wassertemperatur und dem Intersexanteil im Lockwitzbach bestand nicht.

Saisonale Unterschiede im Anteil von Intersexen in den Populationen von *G. fossarum* im Lockwitzbach wurden nicht beobachtet. Auch bestand keine Korrelation zwischen der Länge der Photoperiode und dem Anteil der Intersexe. Die Photoperiode gilt als weiterer geschlechtsbestimmender Faktor für *G. duebenii* und *G. zaddachi* (Bulnheim, 1972). Bei *G. duebenii* ist der Anteil von Intersexen abhängig von einem Zusammenspiel von Photoperiode und Wassertemperatur (Dunn et al., 1996). *G. duebenii* scheint jedoch nicht repräsentativ für andere Gammaridenarten zu sein, da nur für diese Art im Freiland bekannt ist, dass hauptsächlich Umwelteinflüsse das Geschlecht determinieren (Naylor et al., 1988).

An der oberen Probenahmestelle im Lockwitzbach lag insgesamt im Jahr 2000 tendenziell und im Jahr 2001 signifikant ein höherer Anteil an Intersexen im Vergleich zur unteren Probenahmestelle vor. Es kann daher ausgeschlossen werden, dass Intersexualität durch den Einleiter induziert wird. Dagegen kann nicht ausgeschlossen werden, dass es durch den Einleiter zu einer Reduktion des Anteils an Intersexen gekommen sein könnte.

In den beiden Lockwitzbachpopulationen lag ein höherer Anteil an Intersexen im Vergleich zu den Gammaridenpopulationen in der Körsch vor. Auch in weiteren Populationen von *G. fossarum* in anderen Bächen wurden Unterschiede in der Höhe des Anteils an Intersexen nachgewiesen (Petzsch, 2002; Jungmann et al., 2004a und 2004b). Ähnliche Unterschiede im Anteil an Intersexen zwischen Populationen innerhalb einer Gammaridenart wurden auch bei *Gammarus duebenii* (Bulnheim, 1965; Dunn et al., 1994; Kelly et al., 2004) sowie bei *Echinogammarus marinus* (Ford et al., 2003a) gefunden. Die unterschiedlichen Intersexanteile könnten folglich durch genetische Unterschiede zwischen Populationen oder durch einen standortspezifischen Faktor bedingt sein.

Im Goldersbach, aus dem die im aktiven Effektmontoring eingesetzten Gammariden stammten, betrug der Intersexanteil nur 3,2 % (28.08.2001, Petzsch, 2002). Nach 12 Wochen Exposition (14.08.2001) im Lockwitzbach waren 5,1 % und nach 16 Wochen (12.09.2001) 11,2 % der Gammariden in den „Cages“ Intersexe. Die Unterschiede im Intersexanteil bei verschiedener Expositionsdauer waren nicht signifikant, tendenziell war jedoch eine zeitabhängige Erhöhung des Intersexanteils zu beobachten. Nach 16 Wochen war der Anteil an Intersexen im „Cage“ im Lockwitzbach signifikant höher als der für den Goldersbach vorliegende Wert (Chi²-Test, $p < 0,05$). Einschränkung ist zu bemerken, dass die Gammariden zwar aus derselben Population stammten, jedoch die Bestimmung des Intersexanteils in der natürli-

chen Population zu einem anderen Zeitpunkt als zu dem des Beginns des aktiven Effektmonitorings erfolgte. Außerdem kann nicht ausgeschlossen werden, dass Intersexualität durch die Prozedur des Effektmonitoring-Experiments ausgelöst worden sein könnte.

Das aktive Effektmonitoring zeigte, dass genetische Unterschiede nicht der Proximatfaktor für die Induktion von Intersexualität bei *G. fossarum* sind. Diese Ergebnisse waren Anlass für ein weiteres aktives Effektmonitoring speziell zur Untersuchung von Intersexualität. Jungmann et al. (2004b) erbrachten dabei den Nachweis, dass Intersexualität bei *G. fossarum* aus einer Population mit sehr geringem Intersexanteil sowohl durch Exposition im Lockwitzbach als auch nur durch Wasser aus dem Lockwitzbach induziert werden kann. Ob es sich bei diesem standortspezifischen Faktor im Wasser um eine natürliche Ursache (Parasiten oder eine natürliche chemische Substanz) oder um eine Umweltchemikalie mit endokriner Wirkung handelt, ist noch nicht bekannt.

Als möglicher nächster Schritt zur Beantwortung dieser Frage könnte Wasser aus einem Bach mit hohem Intersexanteil in der Gammaridenpopulation durch Festphasenextraktion fraktioniert werden. Gammariden aus einer Population mit niedrigem Intersexanteil könnten gegenüber diesen verschiedenen Fraktionen exponiert werden, so dass eine allmähliche Eingrenzung der Intersexualität induzierenden Substanzen stattfinden könnte. Außerdem würden Parasiten aus dem Wasser bei der Festphasenextraktion nicht erfasst werden. Bei einer Erhöhung des Intersexanteils während der Exposition gegenüber einer Fraktion von Substanzen aus der Festphasenextraktion würden somit Parasiten als Proximatfaktor ausscheiden.

Um die Frage zu klären, ob Intersexe bei *G. fossarum* genetische Männchen oder Weibchen sind, könnten Präkopulapaare getrennt und die Tiere in der Männchenposition gegenüber Lockwitzbachwasser exponiert werden. Da Intersexe nur in der Weibchenposition gefunden wurden, müssten nach Exposition auftretende Intersexe demnach ehemalige Männchen sein.

Welche Auswirkungen ein hoher Anteil an Intersexen auf die Populationsdynamik von *G. fossarum* haben könnte, ist noch unbekannt. Dunn et al. (1990) beobachteten im Laborexperiment bei *G. duebenii* einen geringeren Paarungserfolg von Intersexen verglichen mit Weibchen. In einer natürlichen Population dieser Gammaridenart fanden die Autoren einen geringeren Anteil von Intersexen in Präkopula prozentual zur Gesamtheit der Intersexe verglichen mit dem Anteil von Weibchen in Präkopula prozentual zur Gesamtheit der Weibchen. Kelly et al. (2004) fanden in einer anderen Population dieser Gammaridenart das gleiche Ergebnis. In einer natürlichen Population an einer weiteren Probenahmestelle im Lockwitzbach fand Petzsch (2002) bei *G. fossarum* hingegen keinen solchen Unterschied. Dies deutet darauf hin, dass bei *G. fossarum* möglicherweise der Paarungserfolg von Intersexen nicht reduziert ist. Ferner kann daraus geschlossen werden, dass in der von Petzsch (2002) untersuchten Population vermutlich genügend große Männchen vorhanden waren, die sich mit großen

Intersexen paaren konnten, obwohl bei Gammariden in der Präkopula Männchen etwa 30 % größer als Weibchen sind (beispielsweise Naylor et al., 1988; Gross et al., 2001). Bei *G. duebenii* war weder bei Intersexen noch bei Weibchen eine Korrelation zwischen Gewicht und Brutgröße vorhanden (Dunn et al., 1990). Die Autoren wiesen jedoch bereits selbst darauf hin, dass dafür das „Poolen“ von Daten aus unterschiedlichen Jahreszeiten verantwortlich gewesen sein könnte. Dunn et al. (1990) fanden im Laborexperiment weder in der Brutgröße noch im Anteil der Nachkommen der F₁-Generation, der bis zur Geschlechtsreife überlebte, einen Unterschied zwischen Intersexen und Weibchen bei *G. duebenii*. Ford et al. (2003b) untersuchten Populationen von *Echinogammarus marinus* im Freiland: Intersexe besaßen einen geringeren Fekunditätsindex als Weibchen, waren jedoch größer als Weibchen. Angaben zu den absoluten Eizahlen fehlen. Daher wäre es durchaus möglich, dass der geringere Fekunditätsindex durch die höhere Größe bei Intersexen kompensiert wird, wodurch die absolute Anzahl an Nachkommen von Intersexen der von Weibchen ähneln würde. Die Anzahl der Eier im Marsupium von Intersexen bei *G. fossarum* wurde nicht bestimmt. Durch ihre größere Körperlänge könnten Intersexe bei *G. fossarum* in der Lage sein, mehr Eier pro Brut im Marsupium abzulegen. Folglich könnten Intersexe positiv auf die Reproduktion in einer Population wirken. Es könnte aber auch derselbe Kompensationsmechanismus wie für *E. marinus* weiter oben postuliert, wirken. So fanden Kelly et al. (2004) kürzlich bei *G. duebenii* eine signifikante Reduktion der Brutgröße bei Intersexen verglichen mit Weibchen, wenn die Körpergröße mitberücksichtigt wurde (was dem Fekunditätsindex entspricht). Jedoch gab es keine signifikanten Unterschiede zwischen Intersexen und Weibchen in der absoluten Anzahl von Eiern.

Wünschenswert wäre deshalb besonders die Entwicklung einer die Tiere nicht schädigenden Betäubungsmethode. Erste Versuche dazu in unserer Arbeitsgruppe schlugen bisher fehl, sollten aber forciert werden. Dann könnten gezielt Intersexe hinsichtlich populationsrelevanter Variablen wie Mortalität, Wachstum, Paarungserfolg, Brutgröße, Brutentwicklungszeit sowie Überlebensfähigkeit und Geschlechterverhältnis der Nachkommen untersucht werden.

II.3.3.4 Reproduktion

II.3.3.4.1 Anteil der Juvenilen in den Gammaridenpopulationen

II.3.3.4.1.1 Anteil der Juvenilen bei *G. fossarum* im Lockwitzbach

Im Lockwitzbach betrug der Anteil der Juvenilen im Jahr 2000 in der Population oberhalb des Einleiters zwischen 33 und 93 % bzw. unterhalb des Einleiters zwischen 19 und 83 % (Abb. 24 oben). Die Spitzenwerte wurden jeweils im Sommer zur Zeit der größten Reproduk-

tion erreicht, die niedrigsten Anteile der Juvenilen in den Populationen dagegen im Frühjahr (Lo) bzw. im Herbst (Lu). Der Median lag im Jahr 2000 bei 56 % (Lo) bzw. 55 % (Lu).

Im Jahr 2001 schwankte der Anteil der Juvenilen in der Population bei Lo zwischen 22 und 94 % bzw. bei Lu zwischen 13 und 84 % (Abb. 24 unten). Auch in diesem Untersuchungsjahr wurde der höchste Anteil der Juvenilen im Sommer gefunden. Die anteilig wenigsten Juvenilen waren jeweils im Frühjahr in den Proben vorhanden. Der Median im Jahr 2001 lag bei 76 % (Lo) bzw. 46 % (Lu).

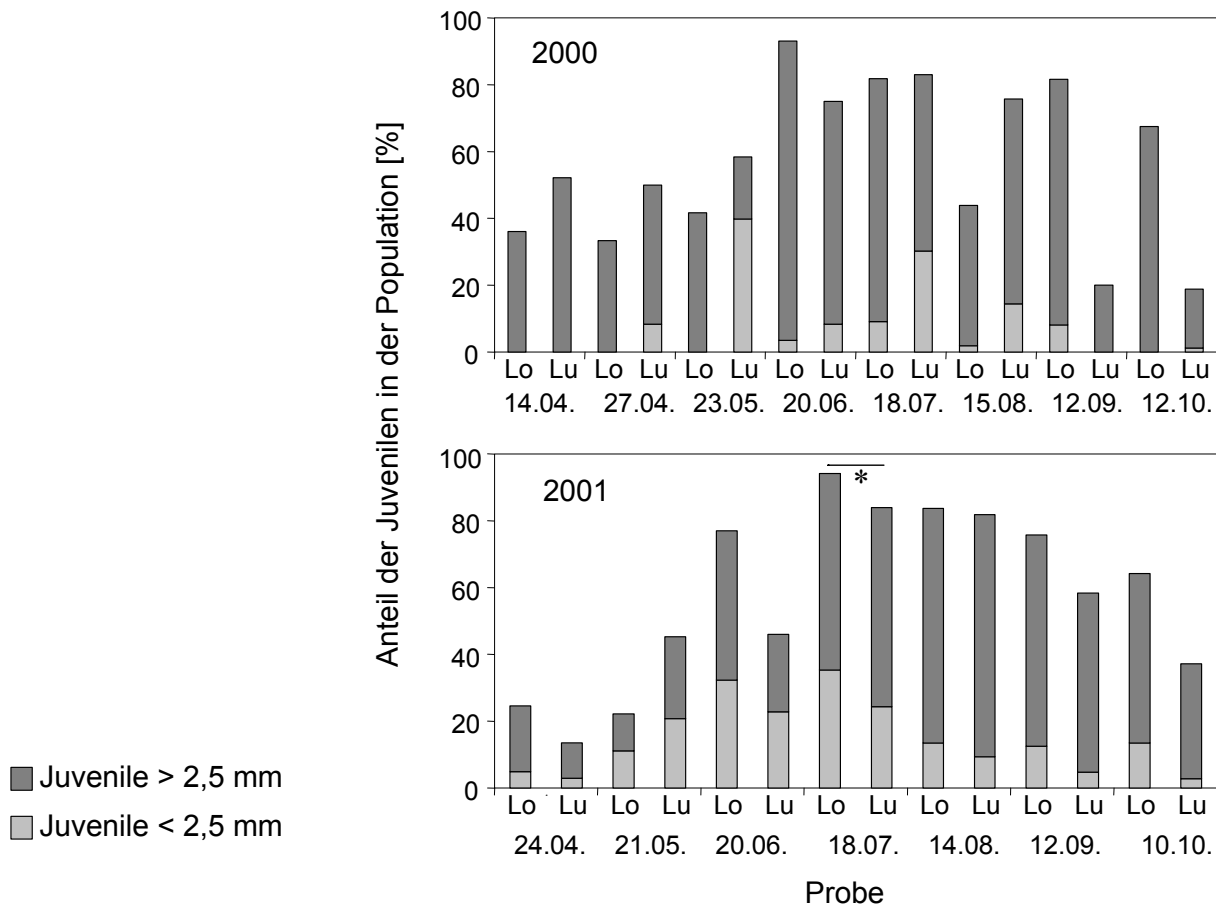


Abb. 24: Anteil der Juvenilen bei *G. fossarum* im Lockwitzbach in den Jahren 2000 und 2001. Lo: Probenahmestelle oberhalb des Einleiters; Lu: Probenahmestelle unterhalb des Einleiters; *: signifikanter Unterschied im Anteil der Juvenilen < 2,5 mm mit $p < 0,05$.

Ein ähnlich hoher Anteil der Juvenilen wurde auch von Pieper (1978) in Freilandpopulationen von *G. fossarum* gefunden. Welton (1979) ermittelte mit bis zu 76 % ähnlich hohe Anteile der Juvenilen in einer *G. pulex*-Population. Hingegen überwogen bei Lehmann (1967) und Obrdlík (1972) die Adulten gegenüber den Juvenilen in Populationen von *G. fossarum*. Möglicherweise sind diese Unterschiede in den unterschiedlichen Fangmethoden begründet. In der vorliegenden Untersuchung, von Pieper (1978) und von Welton (1979) wurden Fanggeräte mit einer kleineren Maschenweite als in den Untersuchungen von Lehmann (1967) und

Obrdlík (1972) benutzt (300 µm/minimal 200 µm/125 µm gegenüber 1mm/500-700 µm). Folglich konnten mehr Juvenile gefangen werden. Pieper (1978) untersuchte die selben Populationen wie Lehmann (1967). Nach Pieper (1978) resultierte die unterschiedliche Populationszusammensetzung aus der unterschiedlichen Fangmethode. Pieper untersuchte Sedimentproben, die einen hohen Anteil an Juvenilen aufwiesen, während Lehmann die Gammariden mittels Elektroschockmethode fing. Juvenile können sich je nach Korngröße des Sediments bis zu 5 cm tief im Sediment verstecken (Pieper, 1978). Demzufolge sollte zur Erfassung der Populationszusammensetzung von Gammariden auch das Sediment beprobt werden. Dies wurde in der vorliegenden Untersuchung durch die Kombination von Kick-sampling und MOS-Sampler gewährleistet (Kap. II.2.6.1). Metag (2000) bezeichnete in diesem Zusammenhang den Fischfraßdruck im Lockwitzbach als den Faktor, der zu einem verminderten Anteil an Adulten in den Gammaridenpopulationen führen könnte. Obrdlík (1972) untersuchte Gammaridenpopulationen in einem fischlosen Bach, Lehmann (1967) jedoch in einem Bach mit Fischbesatz. Trotzdem überwogen bei beiden Autoren die Adulten in den Gammaridenpopulationen. Der Faktor Fischfraßdruck kann demnach nicht für die beobachteten Unterschiede im Verhältnis von Juvenilen zu Adulten in verschiedenen Studien ausschlaggebend gewesen sein.

Um Informationen bezüglich der Reproduktion in einer Population zu gewinnen, kann insbesondere der Anteil der kleinsten, d.h. jüngsten Juvenilenfraktion herangezogen werden. Nach Angaben von Pöckl (1990) zum Wachstum von Juvenilen wurde berechnet, dass Juvenile bis zu einer Körperlänge von ca. 2,5 mm im Zeitraum zwischen zwei Probenahmeterminen aus dem Marsupium entlassen worden sein müssen. Als Grenze zwischen der kleinsten Juvenilenfraktion und den restlichen Juvenilen wurde daher eine Körperlänge von 2,5 mm festgesetzt. Im Jahr 2000 variierte der Anteil der kleinsten Juvenilen in den Proben stark, wie in Abb. 24 (oben) zu erkennen ist. Dies ist vermutlich in den besonders in den ersten Monaten der Untersuchung sehr geringen Probenumfängen (Tab. 7) begründet. Im Jahr 2001 lag der Anteil der kleinsten Juvenilenfraktion in der Population zwischen 5 und 35 % (Lo) bzw. zwischen 3 und 24 % (Lu) (Abb. 24 unten). Im Jahr 2001 war (mit Ausnahme der Proben im Mai) der Trend zu beobachten, dass der Anteil der kleinsten Juvenilen in der Population oberhalb des Einleiters höher war als unterhalb. Dieser Unterschied war nur im Juli signifikant (Chi²-Test, $p < 0,05$). Ein höherer Anteil der kleinsten Juvenilenfraktion bei Lo könnte bedeuten, dass entweder die Mortalität innerhalb dieser Fraktion geringer oder die Reproduktion größer war als bei Lu.

II.3.3.4.1.2 Anteil der Juvenilen in den Gammaridenpopulationen in der Körsch

Bei der Körsch lag der Anteil der Juvenilen in der Gammaridenpopulation im Jahr 2000 oberhalb des Einleiters zwischen 1 und 92 %, unterhalb betrug er 8 bis 86 %. Der Median betrug bei Ko 64 % bzw. bei Ku 76 %. In Abb. 25 (oben) ist zu erkennen, dass Juvenile < 2,5 mm Körperlänge Ende April 2000 noch nicht in den Proben vorhanden waren. Die Reproduktion setzte demzufolge erst später ein. Nach dem Beginn der Reproduktion betrug der Anteil der kleinsten Juvenilenfraktion im Untersuchungszeitraum des Jahres 2000 zwischen 7 und 40 % (Ko) bzw. zwischen 3 und 39 % (Ku) der Population. Das Maximum wurde jeweils im Juli erreicht. Innerhalb eines Probenahmetermins wurde der einzige signifikante Unterschied im Anteil der kleinsten Juvenilenfraktion zwischen beiden Probenahmestellen im Oktober festgestellt (Chi²-Test, $p < 0,05$). Im Oktober 2000 war diese Fraktion bei Ku niedriger verglichen mit Ko.

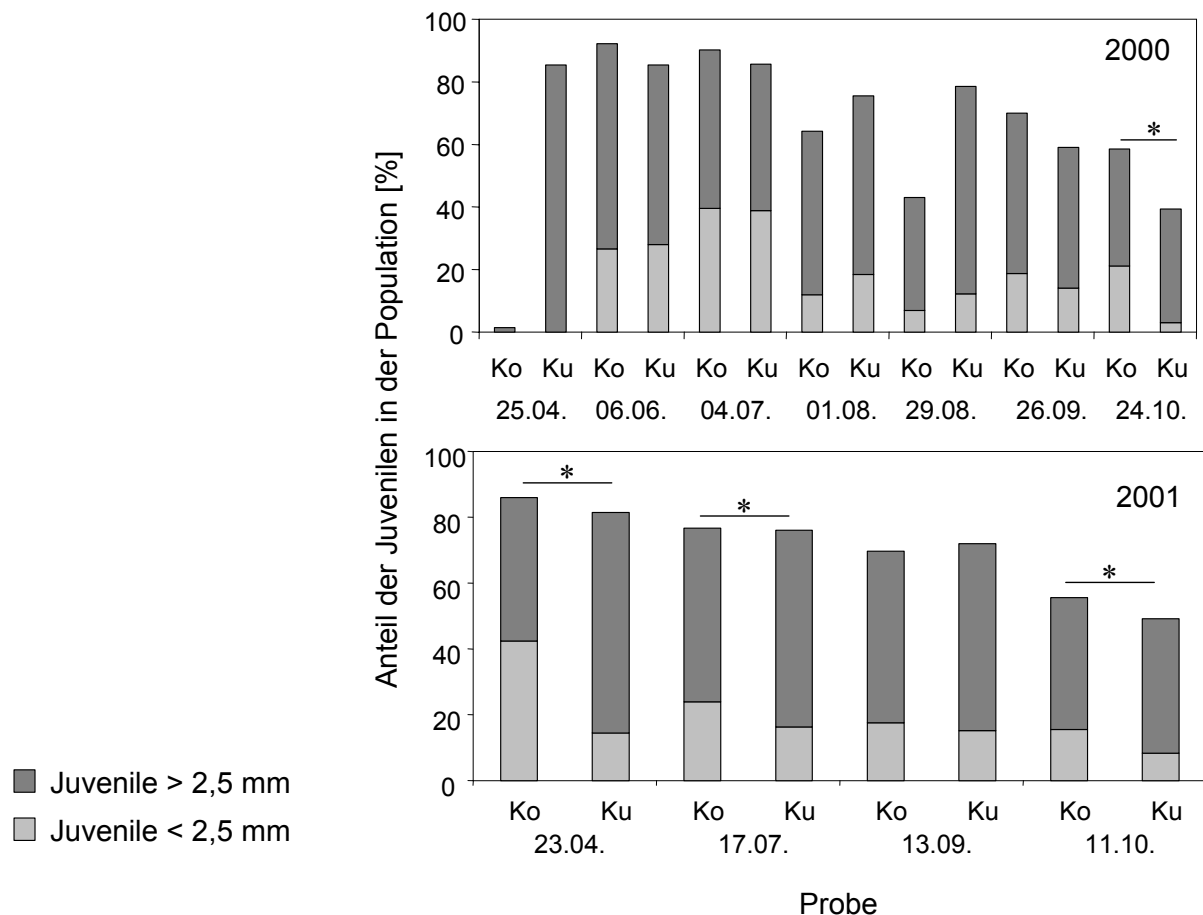


Abb. 25: Anteil der Juvenilen in den Gammaridenpopulationen in der Körsch in den Jahren 2000 und 2001. Ko: Probenahmestelle oberhalb des Einleiters; Ku: Probenahmestelle unterhalb des Einleiters; *: signifikanter Unterschied im Anteil der Juvenilen < 2,5 mm mit $p < 0,05$.

Im Jahr 2001 waren in der Körsch anteilig zwischen 56 und 86 % (Ko) bzw. zwischen 49 und

81 % (Ku) Juvenile in den Populationen vorhanden. Der Median lag hierbei für Ko bei 73 % und für Ku bei 74 %. Im Gegensatz zum Jahr 2000 wurden bereits Ende April in beiden Populationen Juvenile der kleinsten Körperlängenfraktion gefunden (Abb. 25 unten). Ihr Anteil an der Population betrug zwischen 16 und 42 % (Ko) bzw. zwischen 8 und 16 % (Ku). Im Unterschied zum Vorjahr waren bei allen 4 Probenahmeterminen jeweils prozentual weniger Juvenile der kleinsten Körperlängenfraktion an der unteren Probenahmestelle im Vergleich zur oberen vorhanden (Chi²-Test, $p < 0,05$). Dieser Unterschied war nur im September nicht signifikant.

Ein niedrigerer Anteil der kleinsten Juvenilenfraktion im Jahr 2001 bei Ku könnte bedeuten, dass entweder die Mortalität innerhalb dieser Fraktion höher oder die Reproduktion geringer war als bei Ko im Jahr 2001 bzw. im Vergleich zu beiden Probenahmestellen im Vorjahr.

II.3.3.4.1.3 Vergleich der Juvenilenanteile in beiden Bächen

Generell stellten in allen untersuchten Gammaridenpopulationen beider Bäche die Juvenilen zu Zeiten hoher Reproduktion (spätes Frühjahr bis Ende Sommer) mit ca. 60 bis 90 % den größten Anteil in den Populationen. In allen Populationen nahm ihr Anteil zum Oktober hin ab. Einen Hinweis auf Unterschiede in der Reproduktion in den Populationen lieferte insbesondere die Betrachtung des Anteils der Juvenilenfraktion mit den kleinsten Körperlängen ($< 2,5$ mm). Im Jahr 2000 wurden in den meisten Monaten bei beiden Bächen keine Unterschiede zwischen dem Anteil der kleinsten Juvenilen in den Populationen oberhalb bzw. unterhalb des jeweiligen Einleiters detektiert. Eine Ausnahme bildete der Oktober 2000, in dem im Gegensatz zum Lockwitzbach bei der Körsch an der unteren Probenahmestelle verglichen mit der oberen Probenahmestelle der Anteil der kleinsten Juvenilen signifikant geringer war. Im Jahr 2001 jedoch lagen in beiden Bächen tendenziell niedrigere Anteile der kleinsten Juvenilenfraktion in den Gammaridenpopulationen unterhalb der Einleiter verglichen mit den Populationen oberhalb der Einleiter vor. Dieser Unterschied könnte durch einen negativen Einfluss der Einleiter auf die Reproduktion oder auf das Überleben der jüngsten Juvenilen hervorgerufen worden sein.

II.3.3.4.2 Anteil brütender Weibchen bei *G. fossarum*

Eine andere Variable, die für die reproduktive Aktivität einer Population eine wichtige Rolle spielt, ist der Anteil brütender Weibchen. Der Anteil brütender Weibchen wurde in der Literatur unterschiedlich berechnet. So gab Lehmann (1967) die brütenden Weibchen prozentual zur Summe aller Weibchen in seinen Proben an. Wie Teichmann (1982) jedoch nachweisen konnte, werden genauere Aussagen erzielt, wenn der Anteil der brütenden Weibchen nur zum Anteil der adulten, also reproduzierfähigen Weibchen ins Verhältnis gesetzt wird. Adoleszen-

te Weibchen, die noch nicht reproduzieren können, werden bei dieser Art der Berechnung nicht einbezogen. In der vorliegenden Untersuchung wurde der Anteil der brütenden Weibchen prozentual zur Anzahl der adulten Weibchen angegeben. Bei Gammariden ist makroskopisch nicht klar ersichtlich, ab welcher Körpergröße ein Weibchen geschlechtsreif ist. Daher wurde als Grenze zwischen adoleszent und adult die Körpergröße des kleinsten im betreffenden Gewässer und Untersuchungsjahr gefundenen brütenden Weibchens festgelegt. Außerdem wurden mit Acanthocephalen infizierte Gammaridenweibchen aus den Berechnungen ausgeschlossen (s. Kap.II.3.3.5).

II.3.3.4.2.1 Anteil brütender Weibchen bei *G. fossarum* im Lockwitzbach

Besonders im Jahr 2000 und vor allem an der oberen Probenahmestelle wurden im Lockwitzbach nur wenige adulte Weibchen gefangen (Abb. 26 oben). Folglich konnten keine Unterschiede, die auf einen Einfluss des Einleiters zurückzuführen wären, bei dieser populationsrelevanten Variablen im Jahr 2000 nachgewiesen werden. Ein signifikant höherer Anteil an brütenden Weibchen an der oberen Probenahmestelle im Vergleich zur unteren lag nur am 14.4.2000 vor (Chi²-Test, $p < 0,05$). Dieser höhere Anteil brütender Weibchen Mitte April schlug sich jedoch nicht im Anteil der Juvenilen einige Wochen später bei der Probenahme im Mai nieder (Abb. 24 oben). Im Jahr 2001 betrug der Median des Anteils brütender Weibchen im Lockwitzbach 50 % (Lo) bzw. 48 % (Lu). Im Gegensatz zum ersten Untersuchungsjahr wurde im Jahr 2001 die erste Probenahme nicht Mitte April, sondern erst Ende April durchgeführt. Der Verlauf des Anteils brütender Weibchen im Untersuchungszeitraum des Jahres 2001 zeigte vermutlich deshalb keine Unterschiede zwischen den beiden Populationen. Bei beiden Populationen war der Anteil brütender Weibchen im Frühjahr und Sommer hoch und nahm am Ende des Sommers zum Herbst hin ab. Etwa die Hälfte bis Dreiviertel aller geschlechtsreifen Weibchen trugen zur Zeit der höchsten Reproduktion (April bis Ende Juli) Eier oder Juvenile im Marsupium (Abb. 26 unten). Nach Teichmann (1982) sollen in der Hauptreproduktionszeit alle adulten Weibchen sexuell aktiv sein, so dass der Anteil brütender Weibchen nahezu 100 % betragen müsste. Jedoch waren nur im Juni und nur an der oberen Probenahmestelle alle adulten Weibchen brütend. Wie im ersten Untersuchungsjahr nahm der Anteil brütender Weibchen in den Populationen beider Probenahmestellen im Lockwitzbach vom Sommer zum Herbst hin ab. Bei 5 von 7 Probenahmen im Lockwitzbach im Jahr 2001 war der Anteil brütender Weibchen oberhalb des Einleiters höher verglichen mit dem Anteil brütender Weibchen unterhalb des Einleiters. Dieser Unterschied war nur im Juni signifikant (Chi²-Test, $p < 0,05$).

Der Anteil brütender Weibchen könnte im Zusammenhang mit dem Anteil der adulten Männchen in einer Population stehen. Die Geschlechtsreife bei männlichen Gammariden konnte in den Freilandpopulationen nicht erfasst werden. Nach Pöckl (1993a) erreichen Männchen von *G. fossarum* die Geschlechtsreife mit einer Körperlänge von 7,5 mm. Daher wurden auch in

der vorliegenden Studie alle Männchen ab dieser Körperlänge als adult angesehen. Eine Korrelation zwischen dem Anteil brütender Weibchen und dem Anteil der adulten Männchen war weder für die einzelnen Probenahmestellen oder Untersuchungsjahre, noch für die gepoolten Daten gegeben.

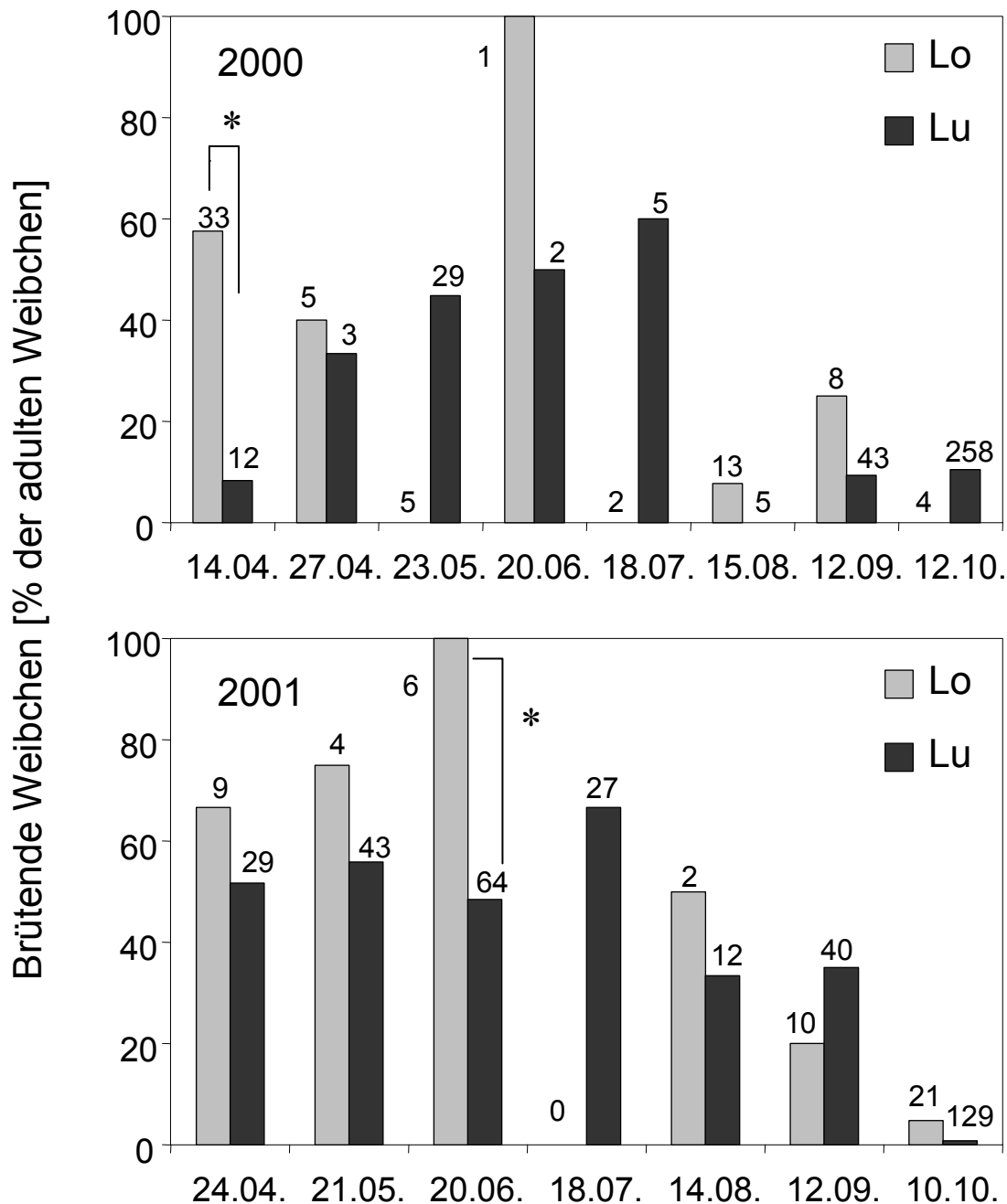


Abb. 26: Anteil brütender Weibchen bei *G. fossarum* im Lockwitzbach in den Jahren 2000 und 2001. Lo: Probenahmestelle oberhalb des Einleiters; Lu: Probenahmestelle unterhalb des Einleiters; Zahlen oberhalb der Säulen: n der untersuchten adulten und nicht mit Acanthocephalen infizierten Weibchen; *: signifikanter Unterschied mit $p < 0,05$.

II.3.3.4.2.2 Anteil brütender Weibchen bei *G. fossarum* in der Körsch

In Abb. 27 ist der Anteil brütender Weibchen in den Gammaridenpopulationen der Körsch dargestellt. Im Jahr 2000 betrug ihr Anteil im Median 60 % (Ko) bzw. 55 % (Ku). Zur Zeit der größten Reproduktion von Juni bis Ende August waren generell ca. 2 Drittel aller adulten Weibchen brütend (Abb. 27 oben). 100 % brütende Weibchen wurden wie beim Lockwitzbach nur im Juni und nur an der oberen Probenahmestelle ermittelt. In beiden Populationen nahm der Anteil brütender Weibchen vom Sommer zum Herbst hin stark ab. An der oberen Probenahmestelle wurden im Herbst noch 20% adulte Weibchen mit Eiern oder Juvenilen im Marsupium vorgefunden. In den Proben von der unteren Probenahmestelle war im September keines und im Oktober nur noch eines (entspricht 1 %) der untersuchten Weibchen brütend. Bei 5 von 7 Probenahmeterminen im Jahr 2000 ergab die Untersuchung der Populationen in der Körsch einen höheren Anteil brütender Weibchen oberhalb verglichen mit unterhalb des Einleiters. Diese Unterschiede waren monatsweise betrachtet nicht signifikant (Chi²-Test, $p < 0,05$). Ein begrenzender Faktor für die statistische Auswertung waren sicherlich die z.T. zu geringen Probenumfänge an der oberen Probenahmestelle von $n < 10$ adulten Weibchen (Abb. 27 oben).

Im Jahr 2001 schwankte der Anteil brütender Weibchen oberhalb des Einleiters zwischen 38 und 62 % (Abb. 27 unten). Der niedrigste Anteil lag im Oktober vor. Bei der unteren Probenahmestelle waren zwischen 0 % (Oktober) und 42 % (September) der adulten Weibchen brütend. Der Anteil brütender Weibchen war also bei der oberen Probenahmestelle in beiden Jahren ähnlich hoch. Hingegen waren bei der unteren Probenahmestelle im Jahr 2001 verglichen mit dem ersten Untersuchungsjahr anteilig weniger brütende Weibchen vorhanden. Auch im Jahr 2001 war tendenziell der Anteil brütender Weibchen oberhalb des Einleiters im Vergleich zu unterhalb höher. Im 2. Untersuchungsjahr war dies bei allen untersuchten Proben der Fall. Bei der monatlichen Betrachtung wurde ein signifikanter Unterschied zwischen beiden Populationen im Oktober nachgewiesen (Chi²-Test, $p < 0,05$).

Eine Korrelation zwischen dem Anteil brütender Weibchen und dem Anteil der adulten Männchen lag weder für die einzelnen Probenahmestellen oder Untersuchungsjahre, noch für die gepoolten Daten vor.

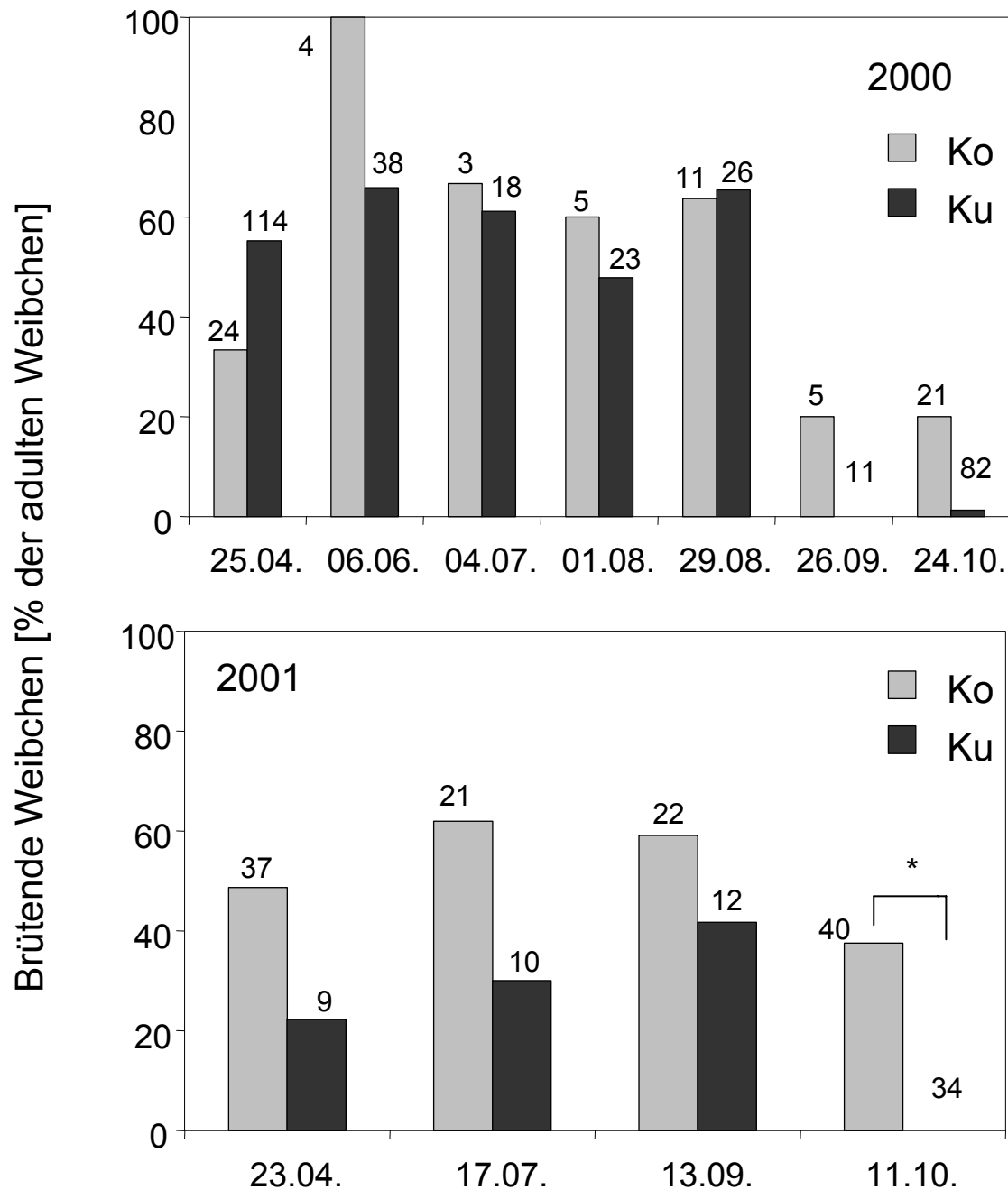


Abb. 27: Anteil brütender Weibchen bei *G. fossarum* in der Körsh in den Jahren 2000 und 2001. Ko: Probenahmestelle oberhalb des Einleiters; Ku: Probenahmestelle unterhalb des Einleiters; Zahlen oberhalb der Säulen: n der untersuchten adulten und nicht mit *Acanthocephalen* infizierten Weibchen; *: signifikanter Unterschied mit $p < 0,05$.

II.3.3.4.2.3 Vergleich des Anteils brütender Weibchen in beiden Bächen

In beiden Bächen war zur Hauptreproduktionszeit mit ca. 60 % ein ähnlich hoher Anteil der adulten Weibchen brütend. Die einzige Ausnahme lag bei der unteren Probenahmestelle von der Körsh im Jahr 2001 vor. Bei diesen Proben wurde ein erniedrigter Anteil brütender Weibchen von höchstens ca. 40 % nachgewiesen. Sowohl im Lockwitzbach als auch in der

Körsch fand die maximale Reproduktion, bei der alle adulten Weibchen brütend waren, bei der oberen Probenahmestelle jeweils im Juni statt. Der Anteil brütender Weibchen nahm in beiden Bächen vom Sommer zum Herbst hin ab.

In beiden Bächen waren tendenziell unterhalb des Einleiters anteilig weniger brütende Weibchen im Vergleich zur oberen Probenahmestelle vorhanden. Diese Tendenz war in der Körsch stärker ausgeprägt als im Lockwitzbach.

II.3.3.4.3 Reproduktionspause bei *G. fossarum*

Die Reproduktion wird bei Gammariden im Freiland von einer Reproduktionspause unterbrochen. Während dieser Zeit findet kaum oder keine Reproduktion statt (Sutcliffe, 1992). Morphologisch ist dieser Zustand bei den adulten Weibchen erkennbar, da sie bei der Häutung zu Beginn der Reproduktionspause die Beborstung an den Oostegiten verlieren und die Oostegiten in ihrer Größe leicht reduziert werden. Die Weibchen sind daher nicht mehr in der Lage, ein funktionsfähiges Marsupium zu bilden (Heinze, 1932; Teichmann, 1982; Sutcliffe, 1992). Laut Sutcliffe (1992) werden auch die Männchen sexuell inaktiv. Zumindest dürfte dies für *G. pulex* und *G. tigrinus* zutreffen (Hynes, 1955; Sutcliffe, 1992). Die Reproduktionspause bei *G. fossarum* beginnt im Herbst und endet im Winter oder Frühjahr (Lehmann, 1967; Obrdlík, 1972; Teichmann, 1982; Pöckl, 1990). Brzezińska-Błaszczyk & Jażdżewski (1980) beschrieben eine später einsetzende und relativ kurze Reproduktionspause für *G. fossarum* im Dezember bis Januar.

In der vorliegenden Untersuchung nahm sowohl der Anteil der Juvenilen, insbesondere der Anteil der Juvenilenfraktion mit der kleinsten Körperlänge, als auch der Anteil brütender Weibchen in allen Populationen zum Herbst hin ab. Beide populationsrelevanten Variablen weisen folglich auf den Beginn der Reproduktionspause hin.

II.3.3.4.3.1 Reproduktionspause bei *G. fossarum* im Lockwitzbach

Betrachtet man den Anteil der kleinsten Juvenilen (Abb. 24) und den Anteil der brütenden Weibchen (Abb. 26) jeweils im Herbst im Lockwitzbach, lässt sich kein gemeinsamer Trend hinsichtlich eines möglichen Unterschieds im Beginn der Reproduktionspause erkennen.

Zusätzlich besaßen vereinzelt auch nichtbrütende adulte Weibchen in beiden Populationen im Oktober noch beborstete Oostegiten. Solche Tiere wurden auch vereinzelt in den Vormonaten gefunden.

II.3.3.4.3.2 Reproduktionspause bei *G. fossarum* in der Körsch

Bei der Körsch war sowohl beim Anteil der kleinsten Juvenilen (Abb. 25) als auch der brütenden Weibchen (Abb. 27) ein stärkerer Rückgang zum Herbst hin bei der unteren im Vergleich zur oberen Probenahmestelle zu verzeichnen. Die Unterschiede zwischen den Probenahmestellen waren im Oktober 2001 bei beiden Populationsvariablen und im Oktober 2000 beim Anteil kleinster Juveniler signifikant. Daraus lässt sich folgern, dass die Reproduktionspause unterhalb des Einleiters früher begann als oberhalb. Diese Unterschiede im Oktober waren im Jahr 2001 stärker ausgeprägt als im Jahr 2000. Ein Grund dafür war vermutlich, dass die Probenahme im Oktober 2001 (11.10.) früher stattfand als die Oktoberprobenahme im Jahr 2000 (24.10.). Ende Oktober sind vermutlich in der Körsch bereits fast alle Weibchen in der Reproduktionspause, so dass Unterschiede zwischen den beiden Populationen kaum noch detektiert werden können. Diese Vermutung wird durch den Befund gestützt, dass im Oktober 2000 bereits alle nichtbrütenden adulten Weibchen beider Populationen unbeborstete Oostegiten trugen, im Oktober 2001 jedoch nur alle nichtbrütenden adulten Weibchen von der unteren Probenahmestelle.

In der Literatur wurde mehrfach die sinkende Wassertemperatur im Herbst als der Auslöser für den Beginn der Reproduktionspause bei Gammariden betrachtet. Bei Lehmann (1967) basierte diese Vermutung auf den Ergebnissen seiner Populationsuntersuchungen bei *G. fossarum* im Freiland. Eine Korrelationsanalyse und die Hypothese unterstützende Experimente wurden jedoch von ihm nicht durchgeführt. Auch Pöckl (1990, 1993a) erwähnte die Wassertemperatur als mögliches Signal für den Beginn der Reproduktionspause bei Gammariden. Auch von ihm wurde diese Hypothese nicht durch entsprechende Untersuchungen überprüft. Andererseits beschrieb bereits Hynes (1955) ein Experiment, in dem brütende Gammariden aus einer Population von *G. tigrinus* im Herbst ins Labor gebracht wurden. Die Weibchen stoppten das Brüten und verloren bei der nächsten Häutung die Oostegitenbeborstung, obwohl sie nicht länger den fallenden Temperaturen ausgesetzt waren. Daher stellte er die Rolle der Wassertemperatur als Auslöser für den Beginn der Reproduktionspause in Frage. Von Sutcliffe (1992) wurden diese verschiedenen Hypothesen sowie die Untersuchungsergebnisse von 6 weiteren Gammaridenarten zusammengestellt. Aufgrund letzterer kam er zu dem Schluss, dass Veränderungen in der Länge der Photoperiode und nicht die Temperatur das Signal für den Beginn der Reproduktionspause sind. Weiterhin schlug er eine mögliche physiologische Erklärung für diese Induktion vor: In Crustaceen wird die Gametogenese endogen durch Hormone kontrolliert. Außerdem ist bekannt, dass diese Hormone durch neurosekretorische Zellen im Gehirn aktiviert werden, die empfindlich gegenüber Änderungen der Photoperiode reagieren (Chiang & Steel, 1985; Sutcliffe, 1992; Subramoniam, 2000). Nach DeMarch (1982) stellt die Photoperiode in nördlichen und gemäßigten Klimazonen ein verlässlicheres und unveränderliches saisonales Signal im Vergleich zur Temperatur dar. Im Winter verlän-

gert sich aufgrund der niedrigen Wassertemperatur die Brutentwicklungszeit erheblich, so dass es für das Weibchen energetisch betrachtet von Vorteil wäre, die aus der Nahrung bezogene Energie in Wachstum anstelle von Reproduktion zu investieren (Nilsson, 1977; Ward, 1986).

Abb. 28 zeigt die Temperaturabnahme zwischen August und Oktober in der Körsch.

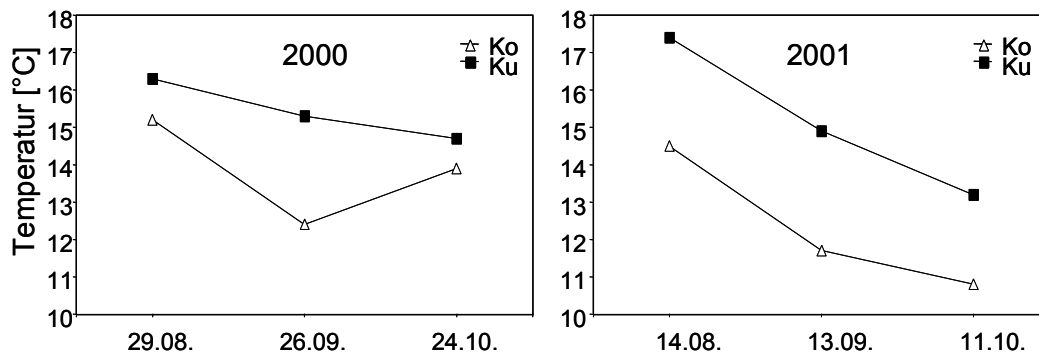


Abb. 28: Temperatur in der Körsch zwischen August und Oktober in beiden Untersuchungsjahren. Ko: Probenahmestelle oberhalb des Einleiters; Ku: Probenahmestelle unterhalb des Einleiters.

Im Jahr 2000 nahm die Wassertemperatur der Körsch oberhalb vom August zum September stärker ab als unterhalb. Zum Oktober hin erhöhte sich die Temperatur an dieser Probenahmestelle wieder. Hingegen verlief an der unteren Probenahmestelle der Temperaturabfall zwischen August und Oktober gleichmäßiger. Im Jahr 2001 war die Stärke des Temperaturabfalls zum Herbst hin zwischen beiden Probenahmestellen ähnlich. Insbesondere im Jahr 2001 sollte die Reproduktionspause bei beiden Gammaridenpopulationen zum gleichen Zeitpunkt einsetzen, wenn das Ausmaß des Temperaturabfalls das Signal für die Reproduktionspause wäre. Auch wenn nicht das Ausmaß des Temperaturabfalls, sondern die absolute Höhe der Temperatur ausschlaggebend für die Induktion der Reproduktionspause wäre, hätte es nicht an der unteren Probenahmestelle zu einer früheren Reproduktionspause verglichen mit oberhalb kommen dürfen. Im Gegenteil, da in beiden Jahren die Temperatur im Herbst niedriger an der oberen Probenahmestelle im Vergleich zur unteren war, hätte bei der oberen Population die Reproduktionspause früher einsetzen müssen.

Daraus kann gefolgert werden, dass die Temperatur nicht der einzige oder wichtigste Faktor für die Induktion der Reproduktionspause ist. Die Photoperiode unterschied sich aufgrund der nahen Lage der beiden Probenahmestellen zueinander nicht. Daher könnte der Einleiter für den früheren Beginn der Reproduktionspause in der Gammaridenpopulation unterhalb des Einleiters verantwortlich sein.

Nach Aufnahme der Reproduktionstätigkeit am Anfang des Jahres produziert das Weibchen theoretisch eine Brut nach der anderen bis zum Ende der Reproduktionsperiode (Teichmann,

1982; Pöckl, 1990). Unter der theoretischen Annahme, dass die Reproduktionspause zum selben Zeitpunkt in beiden Populationen der Körsch endet, stellt sich also die Frage, ob die Gammaridenweibchen an der unteren Probenahmestelle bei der Körsch wegen des früheren Beginns der Reproduktionspause weniger Bruten pro Weibchen ablegen. Eine andere Möglichkeit wäre, dass aufgrund der höheren Wassertemperatur die Bruten oder Oocyten sich schneller entwickeln und auf diese Weise die verkürzte Reproduktionsperiode kompensiert wird. Beispielsweise war im Fließbrinnenexperiment (s. Kap. III.3.3.2.2.3) die Brutentwicklungszeit in der Fließrinne mit einer Wassertemperatur von 17 °C verglichen mit der Fließrinne mit 15 °C verkürzt. Die Anzahl der Bruten pro Weibchen konnte in den Freilandpopulationen nicht erfasst werden. Trotzdem geben die populationsrelevanten Variablen Anteil brütender Weibchen und Anteil der kleinsten Juvenilen einen indirekten Hinweis darauf, dass der Reproduktionszyklus bei den Weibchen unterhalb des Einleiters nicht wesentlich schneller ablief als oberhalb. Beide Variablen zeigten tendenziell unterhalb niedrigere Werte verglichen mit der oberen Probenahmestelle.

Der Einfluss des früheren Beginns der Reproduktionspause unterhalb des Einleiters auf die Population kann nicht direkt erfasst werden. Nach Teichmann (1982) sinkt die Fekundität der Weibchen zum Herbst. Dies ist zum einen auf ihre geringere Durchschnittsgröße im Herbst zurückzuführen. Die ältesten, d.h. größten Weibchen einer Population sterben in den Vormonaten, so dass im Herbst junge, kleine Weibchen den Hauptanteil der Weibchen bilden (Hynes, 1955; Teichmann, 1982). Zum anderen besitzen jedoch auch Weibchen gleicher Körperlängensklasse im Herbst weniger Eier im Marsupium als in den Vormonaten. Der Grund dafür ist unbekannt (Teichmann, 1982). Zusätzlich sinkt der Anteil brütender Weibchen. Ein möglicherweise vorliegender Ausfall der letzten Brut dürfte daher vermutlich den Bestand der Population nicht gefährden.

II.3.3.4.3.3 Vergleich des Beginns der Reproduktionspause in beiden Bächen

Im Gegensatz zum Lockwitzbach setzte bei der Körsch die Reproduktionspause in der Gammaridenpopulation unterhalb des Einleiters früher ein als oberhalb. Ein Einfluss des Einleiters auf den Beginn der Reproduktionspause bei *G. fossarum* ist deshalb nur in der Körsch wahrscheinlich.

II.3.3.4.4 Fekunditätsindex per Handfang gesammelter brütender Weibchen von *G. fossarum*

Neben den Untersuchungen zur Populationsstruktur der mit dem MOS-Sampler gezogenen Proben wurden in der Körsch gezielt brütende Weibchen mit dem Küchensieb gefangen, um deren Eizahl im Marsupium zu ermitteln (Kap. II.2.6.4).

Tab. 10 führt den Median und die Minimal- und Maximalwerte der Anzahl der Eier im Marsupium brütender Weibchen pro Probe aus der Körsch auf. Die kleinste Anzahl der Eier betrug an der oberen Probenahmestelle 9 und die größte Anzahl 37 Eier. Die Schwankungsbreite der Eizahlen brütender Weibchen von der unteren Probenahmestelle betrug zwischen 4 und 32 Eiern. Ähnliche Eizahlen im Marsupium wurden in der Literatur genannt.

Tab. 10: Anzahl der Eier im Marsupium brütender Weibchen von *G. fossarum* in der Körsch in den Jahren 2000 und 2001. Dargestellt sind der Median, Min./Max. Ko: Probenahmestelle oberhalb des Einleiters; Ku: Probenahmestelle unterhalb des Einleiters; -: keine brütenden Weibchen per Handfang gesammelt; n = 8-10.

Datum	Ko	Ku
06.06.2000	22 (17/37)	15 (10/23)
04.07.2000	-	16 (7/20)
29.08.2000	13 (9/22)	8 (5/18)
23.04.2001	24 (9/35)	15 (12/26)
23.05.2001	19 (10/34)	20 (10/29)
19.06.2001	21 (11/35)	18 (14/32)
17.07.2001	15 (9/19)	12 (6/18)
14.08.2001	-	8 (4/20)

Brzezińska-Błaszczyk & Jazdzewski (1980) beschrieben insgesamt eine Schwankungsbreite zwischen 7 und 41 Eiern. Teichmann (1982) und Pöckl (1993a) zählten zwischen 2 und 26 bzw. 2 und 59 Eier im Marsupium brütender Weibchen. Lehmann (1967) ermittelte eine durchschnittliche Anzahl von 5,5 Eiern, eine Schwankungsbreite wurde von ihm nicht angegeben. Die von ihm untersuchten Tiere besaßen eine geringere Körpergröße verglichen mit denen in anderen Studien. Die Zahl der Eier pro Brut ist jedoch mit der Größe des Weibchens positiv korreliert (Pöckl, 1990). Eine Aufteilung der brütenden Weibchen in verschiedene Körperlängenklassen, wie sie von den genannten Autoren durchgeführt wurde, erscheint hier nicht sinnvoll, da die Stichprobenumfänge von n = 8-10 brütenden Weibchen sehr gering waren.

Stattdessen wurde der Fekunditätsindex (Quotient aus Eizahl und Körperlänge) in Anlehnung an Pöckl (1990) berechnet. Mit Hilfe des Fekunditätsindex ist es möglich, Unterschiede in der Reproduktion zwischen den Tieren zu erkennen, die nicht durch eine unterschiedliche Körperlänge bedingt sind. Abb. 29 zeigt die Fekunditätsindices für die einzelnen Probenahmeterminale

und Probenahmestellen.

Im Jahr 2000 war der Median des Fekunditätsindex an beiden Probenahmestellen der Korsch jeweils im August niedriger als in den Vormonaten (Abb. 29a). Die Brutgröße ist bei Gammariden nicht nur von der Größe des Weibchens, sondern auch von der Wassertemperatur abhängig (Pöckl, 1990). Das Temperaturoptimum für *G. fossarum* liegt bei 12,1 °C, bei einer niedrigeren oder höheren Temperatur sinkt der Fekunditätsindex (Pöckl, 1990). Die Größe und Lage des Zeitfensters, in dem eine bestimmte Temperatur zu einem bestimmten Fekunditätsindex bei Gammariden führt, ist unbekannt. Jedoch dürfte die aktuelle Tagestemperatur zur Zeit der Probenahme nicht ausschlaggebend gewesen sein. Daher wurden, wenn möglich, die Wassertemperaturwerte aus 3 Vormonaten gemittelt, um einen Anhalt darüber zu erhalten, welche Wassertemperatur auf die Fekundität einen Einfluss hatte. Mit diesen Werten, die auch in Abb. 29 eingetragen sind, wurde eine Korrelationsanalyse zwischen der Wassertemperatur und dem Fekunditätsindex durchgeführt. Der mit den Werten vom Jahr 2000 errechnete Korrelationskoeffizient betrug $r = -0,92$. Ein signifikanter Unterschied im Fekunditätsindex wurde nur zwischen der Juniprobe von der oberen Probenahmestelle und der Augustprobe von der unteren Probenahmestelle festgestellt (Kruskal-Wallis-ANOVA mit $p < 0,05$ und anschließender Mann-Whitney U-Test mit $p < 0,005$ wegen Bonferroni-Korrektur). Dieser Unterschied war vermutlich durch die hohe Wassertemperatur an der unteren Probenahmestelle im Sommer bedingt. Tendenziell wurde an der jeweiligen Probenahmestelle eine Reduktion des Fekunditätsindex bei gleichzeitiger Erhöhung der Wassertemperatur zum Spätsommer beobachtet.

Im Jahr 2001 wurden signifikante Unterschiede im Fekunditätsindex nur innerhalb einer Probenahmestelle gefunden (Kruskal-Wallis-ANOVA mit $p < 0,05$ und anschließender Mann-Whitney U-Test mit $p < 0,0014$ wegen Bonferroni-Korrektur). Der Fekunditätsindex war an der unteren Probenahmestelle jeweils signifikant im Juli bzw. im August niedriger verglichen mit dem Fekunditätsindex im Juni, vermutlich ebenfalls aufgrund der Erhöhung der Wassertemperatur im Sommer (Abb. 29 b). Die Korrelationsanalyse mit den Werten aus dem Jahr 2001 lieferte einen Korrelationskoeffizienten von $r = -0,95$. Auch an der oberen Probenahmestelle war der Trend zu sehen, dass der Fekunditätsindex von April zum Sommer hin abnimmt, jedoch stand dies nicht eindeutig mit der Wassertemperatur im Zusammenhang. Auch Pöckl (1990) fand in Freilandpopulationen von *G. fossarum* im April jeweils den höchsten Fekunditätsindex.

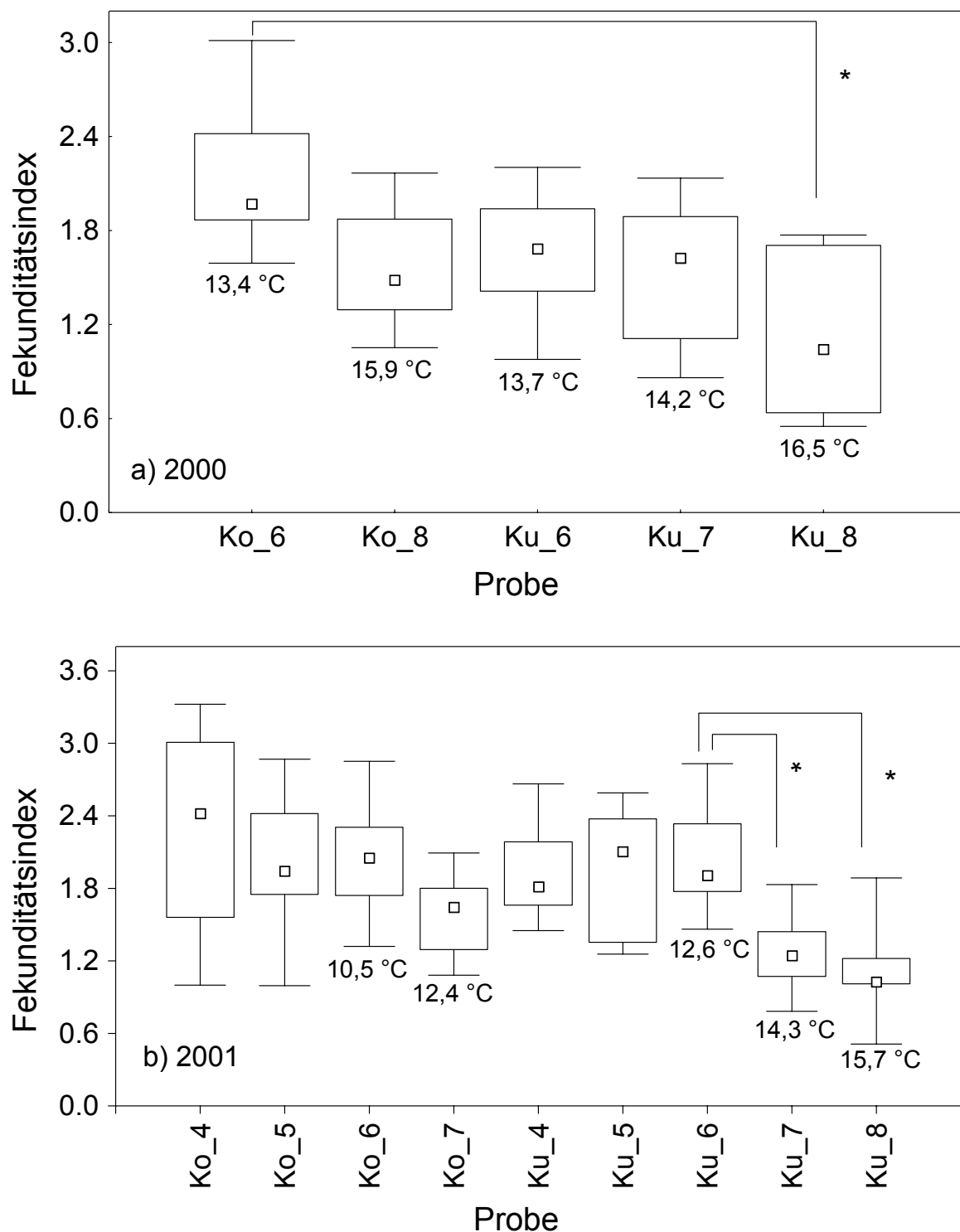


Abb. 29: Fekunditätsindex brütender *G. fossarum*-Weibchen in der Körsh a) in 2000 und b) in 2001 sowie Mittelwert der Wassertemperatur aus 3 Vormonaten pro Probe. Dargestellt sind Median, 25-75%-Perzentile, Minimum und Maximum. Ko: Probenahmestelle oberhalb des Einleiters; Ku: Probenahmestelle unterhalb des Einleiters; Ziffer: Monat; *: signifikanter Unterschied mit $p < 0,005$ bei a) bzw. $p < 0,0014$ bei b).

In beiden Jahren und Probenahmestellen lag also ein saisonaler Trend in der Höhe des Fekunditätsindex vor. Ein wichtiger saisonaler Faktor war die Wassertemperatur. Weiterhin könnten Unterschiede im Nahrungsangebot eine Rolle spielen, was jedoch nicht untersucht wurde. Teichmann (1982) beschrieb bei dieser Gammaridenart ebenfalls eine saisonale Abhängigkeit der Fekundität. In seinen Untersuchungen wiesen Weibchen der jeweiligen Größenklassen eine Abnahme der Brutgröße vom Frühling zum Herbst auf. Auch Pöckl (1990) stellte zumindest bei einigen seiner Freilandpopulationen von *G. fossarum* eine Erniedrigung des Fekunditätsindex vom Frühjahr zum Sommer hin fest.

In beiden Jahren war der Fekunditätsindex im Sommer an der Probenahmestelle unterhalb des Einleiters tendenziell niedriger als bei der Probenahmestelle oberhalb. Dieser Unterschied wurde jedoch vermutlich durch die unterschiedliche Wassertemperatur und nicht durch Chemikalien im Einleiter induziert.

II.3.3.5 Acanthocephalenbefall bei *G. fossarum*

Nach Dr. B. Sures (Universität Karlsruhe), der einige der in Ethanol fixierten und mit Acanthocephalen infizierten Gammariden untersuchte, handelte es sich in den vorliegenden Untersuchungen bei den Acanthocephalen mit großer Wahrscheinlichkeit um *Polymorphus minutus*. In mit Ethanol fixierten Gammariden sind Acanthocephalen schlechter zu erkennen und zu identifizieren als im lebenden Zustand, da auch die Acanthocephalen ihre Färbung verlieren. Dennoch konnten sie in Juvenilen ab etwa 5 mm Körperlänge, Weibchen, Männchen und Intersexen nachgewiesen werden. Die Artbestimmung wird durch die Beobachtung während der Probenahmen unterstützt, dass einige Gammariden einen orangenen Fleck aufwiesen, wie es für *P. minutus* charakteristisch ist (Ward, 1986; Bollache et al., 2001). Endwirte für *P. minutus* sind Wasservögel, z.B. Enten (Hynes, 1955; Bollache et al., 2001). Le Roux (1933) zeigte, dass diese Acanthocephalenart in den meisten Fällen eine sogenannte „Kastration“ infizierter Gammaridenweibchen bewirkt. Dabei wird die Oostegitengröße und -beborstung reduziert, so dass die Weibchen nicht mehr brüten können (Hynes, 1955; Ward, 1986). Dies traf auch in der vorliegenden Untersuchung zu: Alle infizierten Weibchen, die aufgrund ihrer Körperlänge zu den Adulten gezählt werden können, waren wegen dieser morphologischen Veränderungen nicht mehr in der Lage, zu brüten. Generell war dies auch bei den Intersexen der Fall, nur ein infiziertes Intersex war brütend. Bei den Männchen führt der Befall mit *P. minutus* zu einer Verlangsamung der Entwicklung der sekundären Geschlechtsmerkmale, aber nicht zu einer Kastration (Le Roux, 1933; Hynes, 1955; Bollache et al., 2001). Ward (1986) fand weniger infizierte als nichtinfizierte Gammariden in Präkopula. Insbesondere der Paarungserfolg von Männchen wurde genauer untersucht. Sowohl nach Zohar & Holmes (1998) als auch nach Bollache et al. (2001) haben infizierte Gammaridenmännchen

einen niedrigeren Paarungserfolg als nichtinfizierte. Außerdem führt die Infektion mit *P. minutus* zu einem veränderten Schwimmverhalten von Gammariden (Cézilly et al., 2000).

II.3.3.5.1 Acanthocephalenbefall bei *G. fossarum* im Lockwitzbach

Im ersten Untersuchungsjahr wurden im Lockwitzbach keine mit Acanthocephalen infizierten Gammariden nachgewiesen. Der Anteil infizierter adulter Gammariden in denjenigen Proben vom Jahr 2001, in denen mindestens ein Parasit gefunden wurde, ist in Tab. 11 aufgeführt. In juvenilen Gammariden wurden keine Acanthocephalen beobachtet. Insgesamt wurden 0 bis 1,9 % (Lo) bzw. 0,5 bis 10,8 % (Lu) infizierte Tiere gefunden. Die Probenahmestellen waren hinsichtlich des Anteils mit Acanthocephalen infizierter Gammariden ähnlich. Nur im Juli 2001 wurden anteilig mehr Infizierte unterhalb verglichen mit oberhalb des Einleiters gefunden, wobei jedoch der Stichprobenumfang oberhalb sehr gering war (n = 10 auf Acanthocephalen untersuchte Tiere).

Tab. 11: Prozentualer Anteil mit Acanthocephalen infizierter adulter *G. fossarum* im Lockwitzbach im Jahr 2001. Lo: Probenahmestelle oberhalb des Einleiters; Lu: Probenahmestelle unterhalb des Einleiters; W: Weibchen; M: Männchen; I: Intersexe.

Datum	Lo				Lu			
	Gesamt	W	M	I	Gesamt	W	M	I
18.07.	0	0	0	0	10,8	8,5	11,8	66,7
14.08.	1,6	4,3	0	0	1,2	3,3	0	0
12.09.	1,9	0	3,2	8,3	0,5	0	0	6,3
10.10.	0	0	0	0	0,5	0	1,3	0

Pro Geschlecht betrug der Anteil infizierter Tiere generell zwischen 0 und 12 %. Im Juli 2001 waren 66,7 % der Intersexe von der unteren Probenahmestelle infiziert, jedoch wurden insgesamt in dieser Probe nur 3 Intersexe gefunden. Bei den anderen Proben wurde mit 11,8 % der höchste Anteil Infizierter bei den Männchen und zwar ebenfalls in der Juliprobe von der unteren Probenahmestelle festgestellt.

II.3.3.5.2 Acanthocephalenbefall bei Gammariden in der Körsch

An der oberen Probenahmestelle bei der Körsch wurden keine Acanthocephalen gefunden. In Tab. 12 sind die prozentualen Anteile infizierter juveniler Gammariden ab 5 mm Körperlänge, Weibchen und Männchen von der unteren Probenahmestelle aufgelistet. Intersexe waren nicht mit Acanthocephalen befallen. Die Parasiten wurden im Jahr 2000 nur im Herbst, jedoch im Jahr 2001 in allen 4 Proben von dieser Probenahmestelle nachgewiesen. Insgesamt waren 1,3 - 9,0 % der untersuchten Tiere infiziert. Tendenziell wurden über den gesamten Untersu-

chungszeitraum betrachtet jeweils prozentual im Herbst mehr infizierte Gammariden im Vergleich zu den übrigen Monaten gefunden. Bei den Juvenilen war der Anteil infizierter Tiere sehr niedrig (0 - 2,2 %). Bei den Weibchen wurden zwischen 0 und 9,8 % infizierte Tiere in den Proben gefunden. Der Anteil Infizierter bei den Männchen betrug 0,4 bis 12,2 %. Da infizierte Gammariden ihre Acanthocephalen nicht verlieren (Hynes, 1955), steigt mit zunehmendem Alter die Wahrscheinlichkeit infiziert zu sein. Dies führt sicherlich bei den Adulten zu einem höheren Anteil befallener Tiere verglichen mit den Juvenilen.

Tab. 12: Prozentualer Anteil mit Acanthocephalen infizierter Gammariden (Juvenile ab 5 mm Körperlänge und adulte *G. fossarum*) in Proben von der unteren Probenahmestelle an der Körsch (Ku) in den Jahren 2000 und 2001.

Datum	Gesamt	Juvenile ab 5 mm	Weibchen	Männchen
26.09.2000	1,3	0	0	0,4
24.10.2000	7,2	2,2	4,4	7,6
23.04.2001	1,6	0	0	4,2
17.07.2001	1,5	0	0	3,1
13.09.2001	8,5	0,7	9,8	6,8
11.10.2001	9,0	0	7,5	12,2

II.3.3.5.3 Vergleich des Acanthocephalenbefalls in beiden Bächen

In der Körsch wurden nur unterhalb des Einleiters Acanthocephalen nachgewiesen, im Lockwitzbach dagegen in beiden untersuchten Gammaridenpopulationen und in ähnlichem Umfang. Tendenziell waren etwas mehr Männchen als Weibchen mit Acanthocephalen infiziert. Dies wird durch eine bei *G. pulex* durchgeführte Studie von Ward (1986) bestätigt. Die Gründe für diesen Unterschied zwischen den Geschlechtern sind nicht bekannt (Ward, 1986). Sowohl im Lockwitzbach als auch in der Körsch war mit maximal etwa 10 % infizierte Gammariden die Infektion vergleichsweise gering. Bei *G. lacustris* wurden bis zu über 30 % und bei *G. duebenii* bis zu über 25 % mit *P. minutus* infizierte Tiere in Freilandpopulationen nachgewiesen (Hynes, 1955). Wie und in welchem Ausmaß solch ein Parasitenbefall die Populationsstruktur und -dynamik beeinflusst, ist unbekannt. Bei *G. lacustris* wurde das Aussterben von Seepopulationen in Zusammenhang mit einer hohen Infektionsrate mit *P. minutus* gebracht (Hynes, 1955). Jedoch wird vermutet, dass der Einfluss von *P. minutus* in Bachpopulationen geringer als in Seepopulationen von Gammariden ist (Hynes, 1955). Erstens findet in Bächen ein weit größerer Austausch zwischen den Gammaridenpopulationen als in stehenden Gewässern statt. Und zweitens sind in Bächen weniger Wasservögel (Endwirte) vorhanden (Hynes, 1955). Daher dürfte in den beiden untersuchten Bächen die geringe Infektion der Gammariden mit Acanthocephalen den Bestand der Gammaridenpopulationen nicht gefährden.

II.3.3.6 Körperlängen der Gammariden

Die Körperlängen werden getrennt nach Altersstadium und Geschlechtern betrachtet. Bei den Weibchen erfolgte zusätzlich eine gesonderte Betrachtung der brütenden Weibchen. Für den jeweiligen Bach wurden die Daten für das jeweilige Untersuchungsjahr gepoolt und Unterschiede zwischen den Probenahmestellen mit dem Mann-Whitney U-Test auf ihre Signifikanz geprüft ($p < 0,05$). Außerdem wurden mit demselben Test und Signifikanzniveau die jeweiligen Probenahmestellen für einzelne Probenahmetermine verglichen. Bei der Betrachtung der Unterschiede zwischen den Probenahmestellen gingen bei allen Geschlechtern/Stadien nur die Probenahmetermine ein, bei denen jeweils ein Probenumfang von mindestens $n = 5$ Tieren vorlag.

II.3.3.6.1 Körperlängen bei *G. fossarum* im Lockwitzbach

Im Lockwitzbach betrug im Jahr 2000 bei den Juvenilen der Median der Körperlänge 3,8 mm (Lo) bzw. 3,7 mm (Lu), im Jahr 2001 3,5 mm (Lo) bzw. 3,3 mm (Lu). Der kleinste juvenile Gammarid aus dem Lockwitzbach hatte eine Körperlänge von 1,2 mm, der größte eine Körperlänge von 6,9 mm. Die kleinsten Juvenilen in der von Obrdlík (1972) untersuchten Freilandpopulation besaßen eine Körperlänge von ca. 1,5 mm. Pöckl (1990) ermittelte bei gerade aus dem Marsupium entlassenen Juvenilen im Labor eine Körperlänge von minimal 1,3 mm. Insgesamt betrachtet waren die Juvenilen in beiden Untersuchungsjahren an der oberen Probenahmestelle im Lockwitzbach zwar signifikant, aber dennoch nur wenig größer im Vergleich zur unteren Probenahmestelle (Abb. 30). Da jeweils Hunderte von Juvenilen pro Probenahmestelle und Jahr in die statistische Auswertung eingingen, konnten bereits sehr geringe Unterschiede als statistisch signifikant detektiert werden.

In den Einzelmonaten lagen z.T. ebenfalls signifikante Unterschiede in der Körperlänge der Juvenilen beider Probenahmestellen vor (Tab. 13). Jedoch waren in einigen Monaten die Juvenilen an der unteren Probenahmestelle größer und in anderen Monaten kleiner als an der oberen Probenahmestelle. Eine saisonale Abhängigkeit, die sich über beide Jahre erstreckte, war nicht zu erkennen.

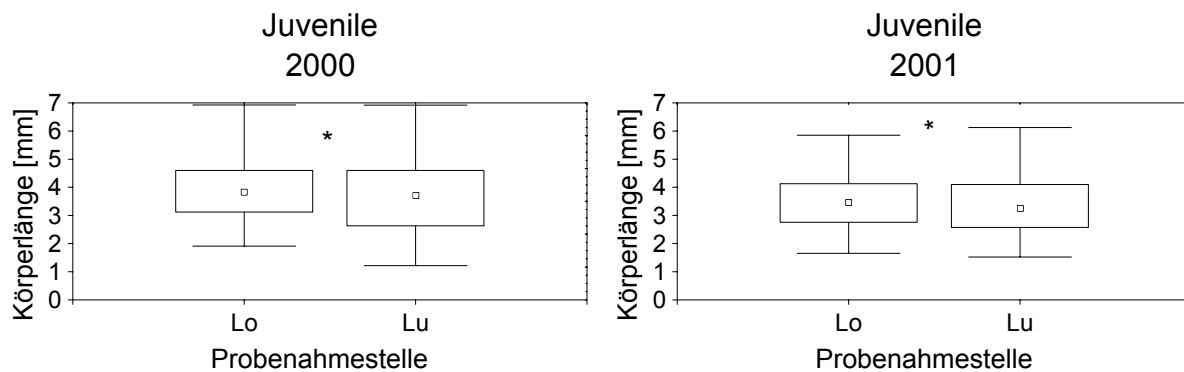


Abb. 30: Körperlänge juveniler *G. fossarum* im Lockwitzbach in den Jahren 2000 und 2001. Dargestellt sind Median, 25-75%-Perzentile, Minimum und Maximum. Lo: Probenahmestelle oberhalb des Einleiters; Lu: Probenahmestelle unterhalb des Einleiters; *: signifikanter Unterschied mit $p < 0,05$.

Das kleinste im Lockwitzbach gefundene Männchen war 4,9 mm lang, das größte 18,9 mm. Obrdlík (1972) beschrieb eine Körperlänge der Männchen von 4 bis 10 mm, Lehmann (1967) von 5,5 bis 11 mm, Schellenberg (1942) bis ca. 17 mm und Pöckl (1993a) bis 17,5 mm. Aus diesen früheren Publikationen wird nicht klar ersichtlich, ob die Tiere z.B. für die Messung nicht gestreckt worden sind und deshalb eine geringere Körperlänge als in der vorliegenden Untersuchung gemessen wurde. In der vorliegenden Untersuchung wurde die unterschiedliche Krümmung der fixierten Tiere berücksichtigt. Die Gammariden wurden zwar nicht gestreckt, jedoch wurde die Körperlänge mit Hilfe von Polylinien erfasst (Kap. II.2.6.6). Dieser und andere geringe Unterschiede in den Messmethoden könnten zu den angegebenen unterschiedlichen Minimal- und Maximallängen von *G. fossarum* geführt haben. Außerdem könnten genetische Unterschiede zwischen den Populationen eine Rolle spielen.

Insgesamt waren im Jahr 2000 die Männchen von der oberen Probenahmestelle (Median = 8,6 mm) signifikant kleiner verglichen mit denen von der unteren Probenahmestelle (Median = 9,7 mm). Ebenso waren die Männchen im Jahr 2001 oberhalb signifikant kleiner als unterhalb des Einleiters (Median: Lo = 6,3 bzw. Lu = 8,2 mm) (Abb. 31). Auch in den einzelnen Monaten waren die Männchen in 2 von 4 Probenahmen (im Jahr 2000) bzw. in allen 5 Probenahmen (im Jahr 2001) oberhalb kleiner als unterhalb (Tab. 13).

Intersexe waren zwischen 5,2 und 15,0 mm groß. Im Jahr 2000 waren die Intersexe von der oberen Probenahmestelle tendenziell und im Jahr 2001 signifikant kleiner als an der unteren Probenahmestelle (Abb. 31). Der Median lag im Jahr 2000 bei 7,9 mm (Lo) bzw. 9,2 mm (Lu) und im Jahr 2001 bei ebenfalls 7,9 mm (Lo) bzw. 8,8 mm (Lu). Dieser Unterschied trat auch bei 3 von 4 einzelnen Probenahmen im Jahr 2001 auf (Tab. 13). Im Jahr 2000 waren für eine monatsweise Betrachtung zu geringe Anzahlen von Intersexen in den Proben pro Monat vorhanden.

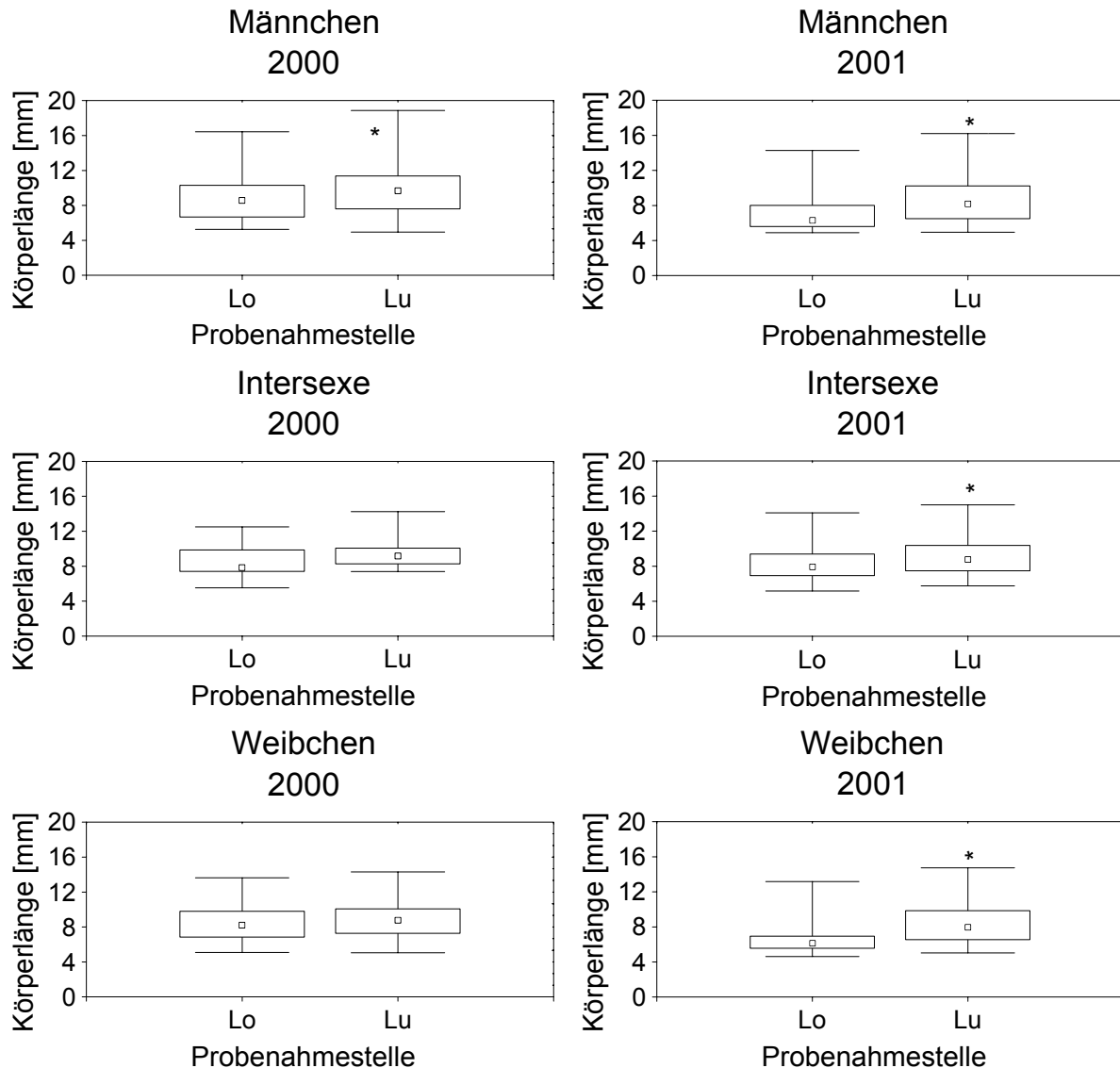


Abb. 31: Körperlänge der unterschiedlichen Geschlechter bei *G. fossarum* im Lockwitzbach in den Jahren 2000 und 2001. Dargestellt sind Median, 25-75%-Perzentile, Minimum und Maximum. Lo: Probenahmestelle oberhalb des Einleiters; Lu: Probenahmestelle unterhalb des Einleiters; *: signifikanter Unterschied mit $p < 0,05$.

Bei den Weibchen wurde eine Körperlänge zwischen 4,6 und 14,8 mm gemessen. Die Minimallänge ähnelte der von Obrdlík (1972) genannten. Die maximal gemessene Körperlänge war auch bei den Weibchen größer als in anderen Studien (Lehmann, 1967; Obrdlík, 1972; Pöckl, 1993a). Die größte Länge der Weibchen wurde dort mit 12 mm angegeben (Pöckl, 1993a). Die Gründe für die beobachteten Unterschiede zwischen den Studien sind vermutlich dieselben wie die bei den Männchen beschriebenen. Fasst man die Daten pro Jahr zusammen, so ergibt sich für das Jahr 2000 eine tendenziell und für das Jahr 2001 eine signifikant kleinere Körperlänge der Weibchen an der oberen verglichen mit der unteren Probenahmestelle (Abb. 31). Der Median der Körperlänge der Weibchen im Jahr 2000 betrug 8,2 mm (Lo) bzw.

8,8 mm (Lu) und im Jahr 2001 6,2 mm (Lo) bzw. 8,0 mm (Lu). Dieser Unterschied war auch bei 3 von 5 Probenahmen im Jahr 2000 bzw. bei allen 6 Probenahmen im Jahr 2001 zu erkennen (Tab. 13).

Brütende Weibchen wurden im Lockwitzbach ab einer Körperlänge von 7,1 mm gefunden. Lehmann (1967) fand in seinen Gammaridenpopulationen brütende Weibchen bereits in der Größenklasse 6-7 mm. Nach Pöckl (1993a) erreichen *G. fossarum*-Weibchen die Geschlechtsreife ab 6,5 mm. Im Gegensatz dazu brüteten bei Obrdlík (1972) bereits 5 bis 6 mm große Weibchen. Das größte brütende Weibchen hatte eine Körperlänge von 14,1 mm. Tendenziell waren brütende Weibchen oberhalb kleiner verglichen mit unterhalb des Einleiters (Abb. 32). Der Median lag im Jahr 2000 bei 11,3 mm (Lo) bzw. 11,7 mm (Lu), im Jahr 2001 bei 10,0 mm (Lo) bzw. 10,4 mm (Lu). Aufgrund zu geringer Anzahlen an brütenden Weibchen in den einzelnen Proben konnten nur die Monate April und Juni 2001 gesondert betrachtet werden. Tendenziell war der Unterschied auch innerhalb dieser Monate ähnlich wie bei den für die Jahre zusammengefassten Daten ausgeprägt (Tab. 13).

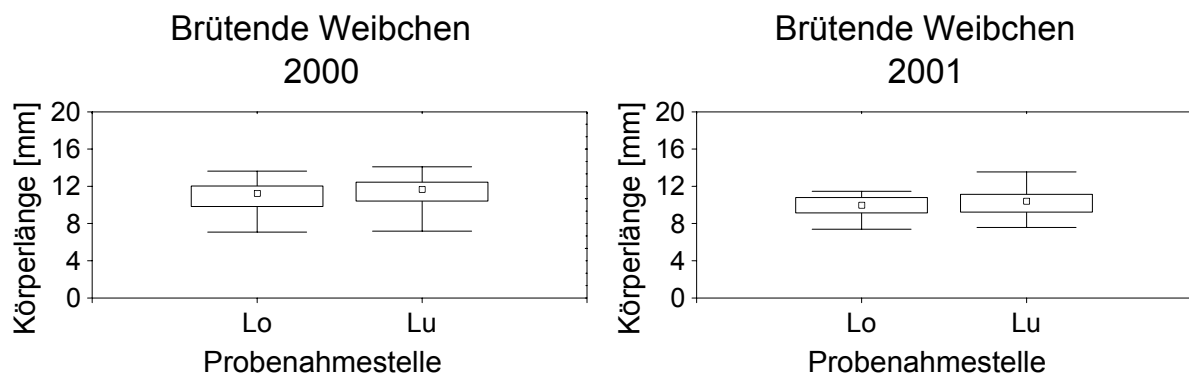


Abb. 32: Körperlänge der brütenden Weibchen bei *G. fossarum* im Lockwitzbach in den Jahren 2000 und 2001. Dargestellt sind Median, 25-75%-Perzentile, Minimum und Maximum. Lo: Probenahmestelle oberhalb des Einleiters; Lu: Probenahmestelle unterhalb des Einleiters.

Bei allen adoleszenten oder adulten Gammariden wurde also unabhängig vom Geschlecht der Trend ermittelt, dass im Lockwitzbach die Tiere oberhalb des Einleiters kleiner waren als unterhalb.

Tab. 13: Vergleich der Körperlängen bei *G. fossarum* im Lockwitzbach in den einzelnen Monaten. Proben mit $n < 5$ Tieren des entsprechenden Geschlechts sind nicht aufgeführt. Signifikanz (+) bei $p < 0,05$. Lo: Probenahmestelle oberhalb des Einleiters; Lu: Probenahmestelle unterhalb des Einleiters.

Geschlecht	Jahr	Monat	Unterschied	Signifikanz
Juvenile	2000	April 1	Lo > Lu	-
		Mai	Lo > Lu	+
		Juni	Lo > Lu	-
		Juli	Lo > Lu	+
		August	Lo > Lu	+
		September	Lo < Lu	+
		Oktober	Lo < Lu	+
	2001	April	Lo < Lu	-
		Juni	Lo > Lu	-
		Juli	Lo < Lu	+
		August	Lo < Lu	+
		September	Lo > Lu	-
		Oktober	Lo < Lu	-
Männchen	2000	April 1	Lo > Lu	-
		August	Lo > Lu	-
		September	Lo < Lu	+
		Oktober	Lo < Lu	+
	2001	April	Lo < Lu	-
		Juni	Lo < Lu	-
		August	Lo < Lu	-
		September	Lo < Lu	-
		Oktober	Lo < Lu	+
Intersexe	2001	April	Lo > Lu	-
		Juni	Lo < Lu	-
		September	Lo < Lu	-
		Oktober	Lo < Lu	+
Weibchen	2000	April 1	Lo > Lu	-
		Mai	Lo < Lu	+
		August	Lo > Lu	-
		September	Lo < Lu	+
		Oktober	Lo < Lu	-
	2001	April	Lo < Lu	-
		Mai	Lo < Lu	-
		Juni	Lo < Lu	+
		August	Lo < Lu	+
		September	Lo < Lu	+
	2001	Oktober	Lo < Lu	+
Brütende Weibchen	2001	April	Lo < Lu	-
		Juni	Lo < Lu	-

II.3.3.6.2 Körperlängen bei Gammariden in der Körsch

In der Körsch waren die Juvenilen zwischen 1,5 und 6,7 mm lang. Die Minimallänge stimmte mit der Angabe bei Obrdlík (1972) überein. Die Juvenilen waren in beiden Untersuchungsjahren an der unteren Probenahmestelle signifikant größer als an der oberen (Abb. 33). Der Median betrug 2,8 mm (Ko) bzw. 3,1 mm (Ku) im Jahr 2000 und 2,7 mm (Ko) bzw. 3,4 mm (Ku) im Jahr 2001.

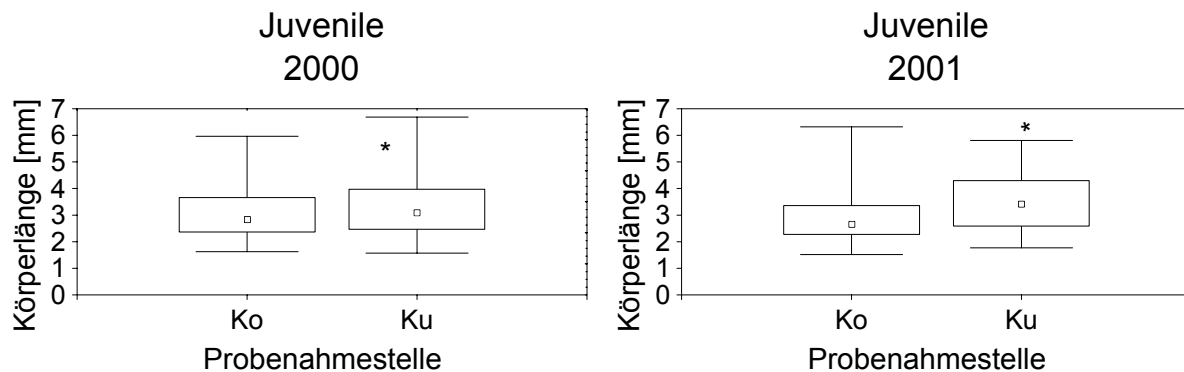


Abb. 33: Körperlänge juveniler Gammariden in der Körsch in den Jahren 2000 und 2001. Dargestellt sind Median, 25-75%-Perzentile, Minimum und Maximum. Ko: Probenahmestelle oberhalb des Einleiters; Ku: Probenahmestelle unterhalb des Einleiters; *: signifikanter Unterschied mit $p < 0,05$.

Im Jahr 2000 wurde dieser Unterschied jedoch nur im Herbst in den Einzelmonaten nachgewiesen, ansonsten waren tendenziell größere Juvenile an der oberen Probenahmestelle vorhanden als unten (Tab. 14). Im Herbst waren an der oberen Probenahmestelle anteilig mehr frischgeschlüpfte Juvenile vorhanden als an der unteren (Kap. II.3.3.4.1.2), so dass das Größenspektrum dort hin zu kleineren Körperlängen verschoben war. Im Jahr 2001 waren bei allen Probenahmeterminen anteilig mehr Juvenile der Fraktion mit der kleinsten Körperlänge oberhalb verglichen mit unterhalb des Einleiters vorhanden (Kap. II.3.3.4.1.2); entsprechend war auch der Median in allen 4 Monaten oberhalb kleiner im Vergleich zu unterhalb (Tab. 14).

Das kleinste *G. fossarum*-Männchen in der Körsch war 5,0 mm lang, das größte 15,5 mm. Die von Schellenberg (1942) und Pöckl (1993a) genannte Maximallänge von ca. 17 mm trat in der Körsch nicht auf. Die Männchen an der oberen Probenahmestelle waren in beiden Jahren signifikant größer (Ko 2000: Median = 8,8 mm; Ko 2001: Median = 8,3 mm) als an der unteren Probenahmestelle (Ku 2000: Median = 8,0 mm; Ku 2001: Median = 7,5 mm) (Abb. 34). Dies war auch bei 5 von 6 Probenahmen im Jahr 2000 sowie bei 2 (April und Oktober) von 4 Probenahmen im Jahr 2001 der Fall (Tab. 14).

In der gesamten Studie wurden nur 7 Intersexe in der Körsch gefunden (Kap. II.3.3.3.2). Ein Vergleich der Körperlängen in den unterschiedlichen Proben war daher nicht möglich. Die Intersexe waren zwischen 6,5 mm und 13,2 mm groß.

Die *G. fossarum*-Weibchen besaßen eine Körperlänge zwischen 4,2 mm und 14,0 mm, konnten also auch in der Körsch etwas größer werden als bei Lehmann (1967) und Pöckl (1993a) beschrieben. Die Weibchen waren im Jahr 2000 tendenziell und im Jahr 2001 signifikant an der oberen Probenahmestelle größer als an der unteren (Abb. 34). Der Median der Körperlänge betrug bei ihnen im ersten Untersuchungsjahr 7,8 mm (Ko) bzw. 7,7 mm (Ku) und im Jahr 2001 7,3 mm (Ko) bzw. 6,7 mm (Ku). Bei 5 von 7 Probenahmeterminen im Jahr 2000 und bei 3 von 4 Probenahmeterminen im Jahr 2001 konnte dieser Unterschied nachgewiesen werden (Tab. 14).

Diejenigen Weibchen, die brüteten, waren mindestens 6,8 mm lang. Dieser Befund stimmt mit den Angaben bei Lehmann (1967) und Pöckl (1993a) überein. Das größte brütende Weibchen besaß eine Körperlänge von 14,0 mm. Der Median lag bei 9,7 mm (Ko) bzw. 8,9 mm (Ku) im Jahr 2000 und bei 9,8 mm (Ko) und 8,8 mm (Ku) im Jahr 2001. Brütende Weibchen waren in beiden Jahren an der oberen Probenahmestelle signifikant größer verglichen mit der unteren Probenahmestelle (Abb. 34).

Bei allen Gammariden in der Körsch, bei denen eine Geschlechtsbestimmung möglich war, zeigte sich also der Trend, dass Tiere oberhalb des Einleiters größer waren als unterhalb.

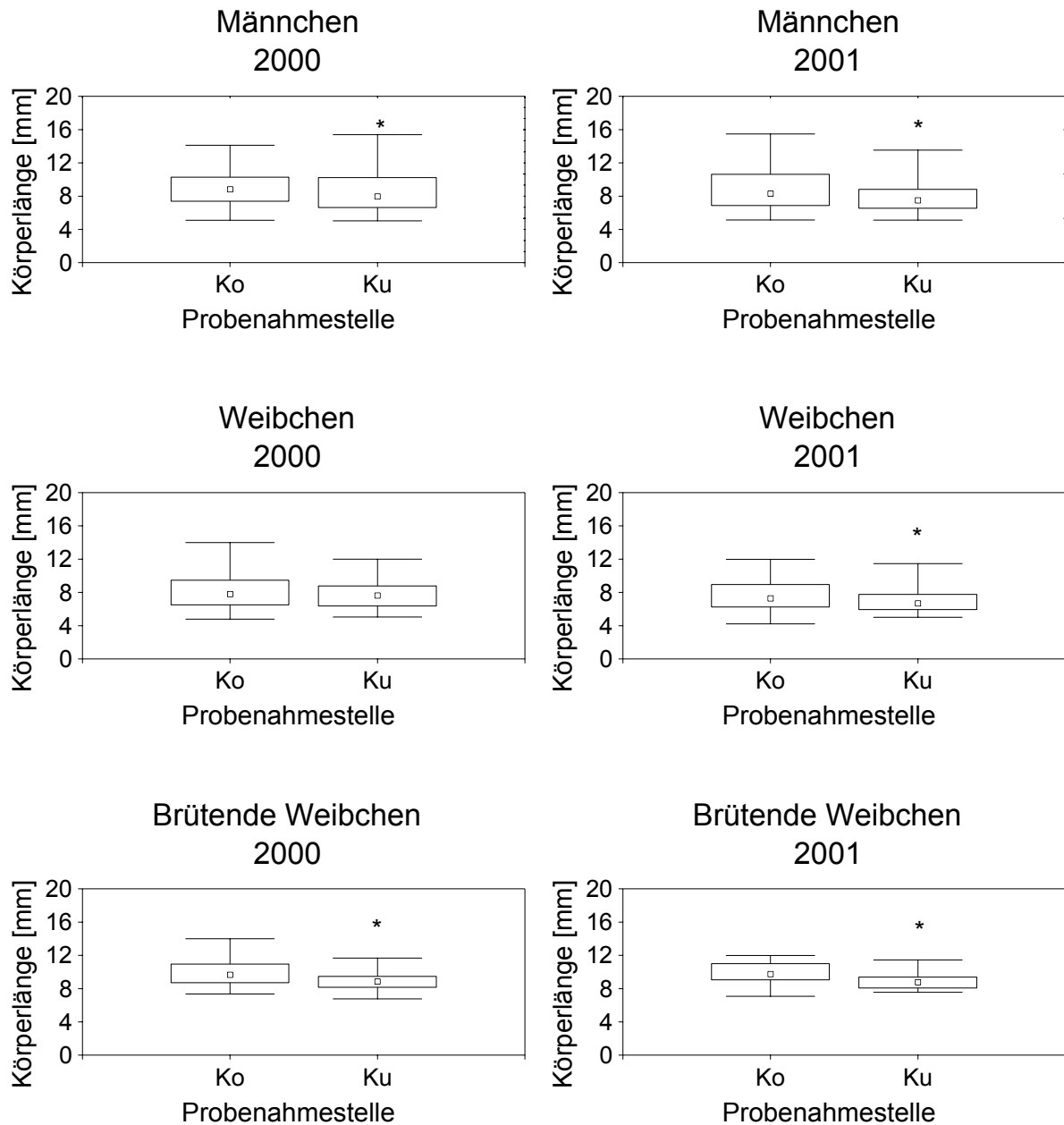


Abb. 34: Körperlänge der Männchen, Weibchen sowie der brütenden Weibchen bei *G. fossarum* in der Körsch in den Jahren 2000 und 2001. Dargestellt sind Median, 25-75%-Perzentile, Minimum und Maximum. Ko: Probenahmestelle oberhalb des Einleiters; Ku: Probenahmestelle unterhalb des Einleiters; *: signifikanter Unterschied mit $p < 0.05$.

Tab. 14: Vergleich der Körperlängen bei juvenilen Gammariden und adoleszenten und adulten *G. fossarum* in der Körsch in den einzelnen Monaten. Proben mit $n < 5$ Tieren des entsprechenden Geschlechts sind nicht aufgeführt. Signifikanz (+) bei $p < 0,05$. Ko: Probenahmestelle oberhalb des Einleiters; Ku: Probenahmestelle unterhalb des Einleiters.

Geschlecht	Jahr	Monat	Unterschied	Signifikanz
Juvenile	2000	Juni	Ko > Ku	-
		Juli	Ko > Ku	-
		August 1	Ko > Ku	-
		August 2	Ko > Ku	-
		September	Ko < Ku	+
		Oktober	Ko < Ku	+
	2001	April	Ko < Ku	+
		Juli	Ko < Ku	-
		September	Ko < Ku	+
		Oktober	Ko < Ku	+
Männchen	2000	April	Ko < Ku	+
		Juli	Ko > Ku	-
		August 1	Ko > Ku	+
		August 2	Ko > Ku	-
		September	Ko > Ku	-
		Oktober	Ko > Ku	+
	2001	April	Ko > Ku	+
		Juli	Ko < Ku	-
		September	Ko < Ku	-
		Oktober	Ko > Ku	+
Weibchen	2000	April	Ko > Ku	-
		Juni	Ko > Ku	-
		Juli	Ko < Ku	-
		August 1	Ko < Ku	-
		August 2	Ko > Ku	-
		September	Ko > Ku	-
		Oktober	Ko > Ku	+
	2001	April	Ko > Ku	+
		Juli	Ko < Ku	-
		September	Ko > Ku	-
		Oktober	Ko > Ku	+
Brütende	2000	April	Ko > Ku	+
Weibchen	2001	August 2	Ko > Ku	+
		September	Ko > Ku	+

II.3.3.6.3 Vergleich der Körperlängen bei Gammariden beider Bäche

Die adulten *G. fossarum*-Tiere aus dem Lockwitzbach wurden verglichen mit Literaturangaben und verglichen mit den Tieren aus der Körsch größer. Die Gammariden aus Lockwitzbach und Körsch wurden mit der gleichen Methode vermessen. Die größere Maximallänge der Gammariden im Lockwitzbach basierte daher vermutlich auf genetischen Unterschieden zwischen den Populationen oder anderen nicht untersuchten Faktoren.

In dem jeweiligen Bach zeigten die adulten Tiere über alle Geschlechter hinweg stets den gleichen Trend hinsichtlich Unterschieden in der Körperlänge zwischen den beiden Probenahmestellen. Hierbei waren die Gammariden im Lockwitzbach unterhalb des Einleiters pro Geschlecht größer verglichen mit oberhalb. In der Körsch wurde die umgekehrte Tendenz beobachtet, hier waren die Adulten unterhalb des Einleiters kleiner als an der oberen Probenahmestelle.

Die Männchen sind generell ca. 30 % größer als die zugehörigen Weibchen in einem Präkopulapaar (Birkhead & Clarkson, 1980; Gross et al., 2001). Daher ist es möglich, dass die Unterschiede in der Körperlänge der brütenden Weibchen zwischen den beiden Probenahmestellen pro Bach aus den Unterschieden der Körperlänge der Männchen und Weibchen insgesamt resultierten. Beispielsweise waren bei der Körsch die Männchen und Weibchen an der unteren Probenahmestelle kleiner und entsprechend waren auch die brütenden Weibchen kleiner im Vergleich zu den Tieren oberhalb des Einleiters.

Für die Entwicklung einer Population ist insbesondere die Körperlänge der brütenden Weibchen wichtig, da die Brutgröße von der Größe des Weibchens abhängig ist. Je größer das Weibchen ist, desto höher ist die Anzahl der Eier, die ins Marsupium abgelegt werden können (Heinze, 1932; Hynes, 1955; Birkhead & Clarkson, 1980; Teichmann, 1982; Pöckl, 1990 und 1993a). Der Unterschied in der Körperlänge brütender Weibchen war nur in der Körsch signifikant. Die kleinere Körperlänge brütender Weibchen hatte wahrscheinlich aufgrund der geringeren Reproduktion einen negativen Einfluss auf die Gammaridenpopulation unterhalb des Einleiters aus dem Klärwerk.

II.4 Abschließende Betrachtung der Freilanduntersuchungen

Die Untersuchung der Struktur und Dynamik von Gammaridenpopulationen in Lockwitzbach und Körsch zeigte Unterschiede im Vorkommen von *G. pulex* und Intersexen zwischen beiden Bächen auf. Außerdem überwogen tendenziell im Geschlechterverhältnis im Lockwitzbach die Weibchen, in der Körsch dagegen die Männchen (Ausnahme: Probenahmestelle Körsch oben im Jahr 2001).

Unterschiede zwischen den beiden Untersuchungsjahren sind vermutlich hauptsächlich auf die verbesserte Probenahmemethode im 2. Untersuchungsjahr zurückzuführen. Dadurch lag für das Jahr 2001 eine größere Datenbasis vor, so dass Unterschiede zwischen den Probenahmestellen pro Bach im Jahr 2001 stärker ausgeprägt waren als im Jahr 2000.

Jahreszeitliche Unterschiede betrafen die Reproduktionspause und den Fekunditätsindex. Im Herbst wurde in beiden Bächen der für *G. fossarum* typische Beginn der Reproduktionspause beobachtet. Der Fekunditätsindex wurde nur in der Körsch untersucht. Er nahm zum Spätsommer hin ab.

Im Lockwitzbach war der prozentuale Anteil von Intersexen in der Population oberhalb des Einleiters höher verglichen mit unterhalb. Unabhängig vom Geschlecht waren die adoleszenten und adulten Gammariden unterhalb des Einleiters etwas größer als oberhalb.

Bei beiden Bächen war, vor allem im Jahr 2001, der Anteil der Juvenilenfraktion mit der kleinsten Körperlänge sowie der Anteil brütender Weibchen unterhalb des Einleiters verglichen mit oberhalb erniedrigt. Diese Unterschiede waren in der Körsch deutlicher als im Lockwitzbach ausgeprägt. Der geringere Anteil der kleinsten Juvenilen führte in der Population unterhalb des Einleiters insgesamt zu einem größeren Median der Körperlänge bei den Juvenilen dieser Population verglichen mit oberhalb.

Bei der Körsch wurden nur an der unteren Probenahmestelle mit Acanthocephalen infizierte Gammariden gefunden. Außerdem setzte die Reproduktionspause in dieser Population früher ein als in derjenigen an der oberen Probenahmestelle. Im Gegensatz zum Lockwitzbach waren in der Körsch die Männchen und Weibchen bei *G. fossarum* unterhalb des Einleiters kleiner als oberhalb. Dieser Unterschied in der Körperlänge galt auch für die brütenden Weibchen. Außerdem war der Fekunditätsindex im Sommer an der unteren Probenahmestelle in der Körsch erniedrigt.

Das Ziel der Populationsuntersuchungen an *G. fossarum* war, mögliche endokrin disruptive Effekte von Chemikalien aus Einleitern von Klärwerken aufzudecken. Die chemische Analytik ergab, dass die Probenahmestelle an der Körsch unterhalb des Einleiters aus dem Klärwerk etwas stärker belastet war als die anderen Probenahmestellen. Das berechnete östrogene Potenzial war an dieser Probenahmestelle 22-35x höher verglichen mit den anderen

Probenahmestellen. Dies ist im Wesentlichen auf 17 α -Ethinylöstradiol zurückzuführen. In Laboruntersuchungen mit *G. fossarum* im Rahmen des Xehogamm-Projekts wurde ein östrogenrezeptor α (ER α)-ähnliches Protein für Arthropoden erstmalig nachgewiesen (Köhler et al., eingereicht). Dieses Protein trat nur in adulten Weibchen auf, konnte jedoch durch 17 α -Ethinylöstradiol in adoleszenten Weibchen induziert werden. Eine östrogene Wirkungsweise von Umweltchemikalien, wie sie für Vertebraten bekannt ist, lässt sich daher auch für Crustaceen vermuten. 17 α -Ethinylöstradiol wurde an zwei Probenahmeterminen in der Körsch unterhalb des Einleiters nachgewiesen. Watts et al. (2002) stellten im Laborexperiment durch den Einfluss des Östrogens 17 α -Ethinylöstradiol eine erhöhte Reproduktion (ab 1 μ g/L) und eine Verschiebung des Geschlechterverhältnis zugunsten der Weibchen (ab 100 ng/L) bei *G. pulex* fest. Ebenso tendierte bei *Hyaella azteca* (Amphipoda) durch die Exposition gegenüber 17 α -Ethinylöstradiol ab einer Konzentration von 100 ng/L das Geschlechterverhältnis hin zu den Weibchen (Vandenbergh et al., 2003). Im Gegensatz dazu war das Geschlechterverhältnis an der unteren Probenahmestelle verglichen mit der oberen nicht verschoben und die untersuchten Reproduktionsvariablen waren erniedrigt. Möglicherweise war die Konzentration von 17 α -Ethinylöstradiol mit maximal 1,7 ng/L in der Körsch zu niedrig, um ähnliche Effekte hervorzurufen.

Bei Arthropoden wird in letzterer Zeit die Bedeutung von bei Vertebraten östrogen wirkenden Chemikalien als Antagonisten des Ecdysteroidrezeptors diskutiert. So konnte z.B. für 17 α -Ethinylöstradiol und Bisphenol A, die beide an der unteren Probenahmestelle in höherer Konzentration als oberhalb nachgewiesen wurden (Kap. II.3.2), in einem *in vitro*-Zellessay eine antagonistische Wirkung auf den Ecdysteroidrezeptor gezeigt werden (Dinan et al., 2001). α -HCH, das bei Ku ebenfalls in höherer Konzentration verglichen mit Ko vorkam, besaß keine antagonistische Wirkung auf den Ecdysteroidrezeptor (Dinan et al., 2001). Ecdysteroide sind bei Crustaceen nicht nur für die Häutung wichtig, sie spielen auch eine wichtige Rolle in der Entwicklung und Reproduktion dieser Organismen (Dinan et al., 2001, Gross et al., 2001). Eine Verlangsamung des Häutungszyklus bei Crustaceen durch bei Vertebraten östrogen wirksame Substanzen wurde mehrfach in der Literatur beschrieben (Baldwin et al., 1995; Zou & Fingerman, 1997a, 1997b). Lemos et al. (2004) zeigten, dass Bisphenol A bei *Porcellio dilatatus* (Isopoda) eine Schädigung der Häutung und des Wachstums bewirkt. Dieser Effekt könnte in Freilandpopulationen von Gammariden zu den beobachteten kleineren Körperlängen unterhalb des Einleiters des Klärwerks bei der Körsch geführt haben. Solch ein Effekt wurde bereits von Gross et al. (2001) bei *G. pulex* vermutet. Bei *G. pulex* ermittelten Gross et al. (2001) ebenfalls eine kleinere Körperlänge von Männchen und Weibchen unterhalb eines ihrer beiden untersuchten Einleiter aus Klärwerken im Vergleich zur Referenzstelle. Dabei handelte es sich um den Einleiter aus dem kommunalen Klärwerk Harpenden (River Lea, Großbritannien) (Desbrow et al., 1998). Exposition von männlichen Fischen unterhalb der

beiden von Gross et al. (2001) untersuchten Einleiter (East Hyde und Harpenden) führte in der Studie von Harries et al. (1996) zu einer hohen Vitellogeninkonzentration in diesen Tieren. Dabei war die Vitellogeninkonzentration in den Fischen unterhalb des Klärwerks Harpenden höher als unterhalb des Klärwerks East Hyde. Chemische Analyseergebnisse zur Chemikalienbelastung des Wassers im Einleiter oder unterhalb des Klärwerks East Hyde sind nicht vorhanden. Als östrogen wirksame Fraktionen im Einleiter des Klärwerks Harpenden detektierten Desbrow et al. (1998) Östron (ca. 5-9 ng/L) und 17 β -Östradiol (ca. 4-7 ng/L), 17 α -Ethinylöstradiol lag dagegen unterhalb der Nachweisgrenze von 0,2 ng/L. Im Gegensatz dazu wurde in der vorliegenden Untersuchung das Wasser nicht hinsichtlich Östron analysiert und 17 β -Östradiol nicht nachgewiesen (Nachweisgrenze: 1 ng/L). 17 α -Ethinylöstradiol wurde 2x unterhalb des Einleiters in der Körsch nachgewiesen. Körner (2000) wies im Unterlauf der Körsch eine Östron-Konzentration im Wasser zwischen 4 und 49 ng/L nach. Östron ist der primäre Metabolit von 17 β -Östradiol in der biologischen Reinigungsstufe von Klärwerken. Wenn die Aufenthaltsdauer des Abwassers im Klärwerk für den vollständigen Abbau der natürlichen Östrogene nicht ausreicht, ergeben sich deutlich messbare Konzentrationen von Östron im Einleiter (Körner, 2000). Entsprechend fanden Körner (2000) und weitere von ihm zitierte Autoren stets höhere Konzentrationen von Östron als von 17 β -Östradiol in den Einleitern von kommunalen Klärwerken. Nach Routledge et al. (1998) reichen 25 ng/L Östron aus, um einen signifikant erhöhten Vitellogeninplasmaspiegel in männlichen Regenbogenforellen im Laborversuch zu induzieren. Auch in natürlichen Fischpopulationen (*Cyprinus carpio*) wurde eine positive Korrelation zwischen der Östronkonzentration im Wasser und dem Vitellogeninplasmaspiegel der Männchen beobachtet (Petrovic et al., 2002). Bezüglich der Wirkung von Östron auf Crustaceen liegt bisher erst eine Studie vor. Andersen et al. (2001) stellten nur ein geringes Potenzial dieser Substanz zur Hemmung der Nauplienentwicklung bei *Acartia tonsa* (Copepoda) fest. Die EC₁₀ lag beispielsweise bei 0,25 mg/L Östron. Östron sollte in zukünftigen Untersuchungen zur endokrinen Disruption bei Gammariden berücksichtigt werden.

Neben den Untersuchungen auf Populationsebene wurden im Projekt Xehogamm auch suborganismische Variablen bei *G. fossarum* untersucht (Jungmann et al., 2004a). Nur an der Körsch zeigten Gammariden unterhalb des Klärwerkseinleiters einen niedrigeren hsp90-Level im Vergleich zu oberhalb. Dies galt nur für L-Tiere (Gammariden > 9 mm). Kleinere Gammariden wiesen kein einheitliches Muster bezüglich ihrer hsp90-Level auf. In histologischen Untersuchungen der weiblichen Gonaden wurden nur bei M-Tieren (mit einer Körperlänge zwischen 6 und 9 mm) und nur bei der Körsch Unterschiede zwischen den Probenahmestellen festgestellt: M-Weibchen unterhalb des Klärwerkseinleiters besaßen generell Oocyten in einem späteren Stadium des Eireifungszyklus, größere LVO („Late Vitellogenic Oocytes“) und höhere Atresieraten der Oocyten. Ob bei Ku die Dauer des Eireifungszyklus verkürzt oder

verlängert war, oder aber ob die Eireifung zeitlich versetzt zur Eireifung an der oberen Probenahmestelle stattfand, ist unbekannt. Größere LVO könnten daraus resultieren, dass statt einer großen Anzahl an Eiern pro Brut nur wenige, aber größere Eier gebildet werden. Außerdem ist die Größe der LVO positiv mit dem Eireifegrad bei M-Tieren korreliert (Jungmann et al., 2004a). Hohe Atresieraten gelten beispielsweise bei Fischen als eine Reaktion auf Umweltbelastungen (Takashima & Hibiya, 1995).

Trotz der Hinweise auf eine erniedrigte Reproduktion wurden an der unteren Probenahmestelle der Körsch die höchsten Abundanzen an *G. fossarum* überhaupt im Rahmen der vorliegenden Studie gefunden. Eine Erklärung für diese Diskrepanz könnte darin bestehen, dass an dieser Probenahmestelle die Kapazitätsgrenze des Systems erreicht war. Aufgrund der hohen Abundanz selbst könnte folglich eine dichteabhängige Niederregulierung der Reproduktion stattgefunden haben. Dem steht jedoch entgegen, dass beispielsweise im Frühjahr 2001 bei der Körsch die Reproduktion bei Ku bereits erniedrigt war (Abb. 25 und Abb. 27), obwohl gleichzeitig nicht die höchsten beobachteten Abundanzen vorlagen (Abb. 14). Hinzu kommt, dass tendenziell auch beim Lockwitzbach eine Reduktion der Reproduktionsvariablen geringerer Anteil der kleinsten Juvenilen und der brütenden Weibchen festgestellt wurde (Abb. 26), wo die Abundanz weniger hoch war (Abb. 13). Vermutlich war daher die jeweilige Kapazitätsgrenze nicht erreicht.

Stattdessen wurden an der unteren Probenahmestelle bei der Körsch die erniedrigten Reproduktionsvariablen (geringerer Anteil der kleinsten Juvenilen und der brütenden Weibchen) durch andere Faktoren kompensiert. Das Phänomen, dass Populationen insgesamt weniger empfindlich als einzelne populationsrelevante Variablen reagieren, ist in der Literatur bekannt (Forbes & Calow, 1999; Forbes et al., 2001). Äußere Faktoren könnten dahingehend auf die Population einwirken, dass Kompensationsmechanismen stattfinden können. Um welche es sich dabei handelt, ist unbekannt. Im Freiland ist es nicht möglich, alle Faktoren, die auf eine Population einwirken könnten, zu untersuchen. Nicht untersucht wurden beispielsweise mögliche Unterschiede im Fischfraßdruck sowie in der Drift und Aufwanderung der Gammariden. Schmidt (2003) konnte im Reproduktionsmodell GamMod zeigen, dass bei *G. fossarum* in künstlichen Fließbrinnen die Juvenilmortalität der sensitivste Parameter für das Populationswachstum ist. Dieses Ergebnis sollte in zukünftigen Fließbrinnenexperimenten geprüft und seine Übertragbarkeit auf Freilandverhältnisse untersucht werden. Ein aktives Effektmonitoring, ähnlich wie es von Teichmann (1982) durchgeführt wurde, könnte bezüglich der Populationsvariablen Mortalität sowohl der Juvenilen als auch der Adulten, Schlüpfertag pro Weibchen, Paarungserfolg und Wachstum wertvolle Informationen liefern. Auch die Brutentwicklungszeit kann in natürlichen Populationen nicht bestimmt werden, da die Reproduktion in einer Gammaridenpopulation nicht synchron verläuft, so dass beispielsweise Juvenile nicht in Kohorten eingeteilt werden können. Die Brutentwicklungszeit dürfte jedoch

an der unteren Probenahmestelle der Körsch kürzer gewesen sein als oberhalb, da die Wassertemperatur höher war (Kap. II.3.1). Mit Zunahme der Temperatur nimmt bei *G. fossarum* die Brutentwicklungszeit im Marsupium ab (Pöckl, 1990, 1993; Kap. III.3.3.2.2.3). Eine wichtige Rolle könnte die erhöhte Phosphat-Konzentration im Wasser unterhalb des Einleiters bei der Körsch gespielt haben (Abb. 11). Durch das verbesserte Nährstoffangebot konnte möglicherweise ein vermehrtes Algenwachstum stattfinden, wodurch indirekt die Nahrungssituation der Gammariden verbessert wurde. Neben Falllaub im Gewässer (Bick, 1959; Haeckel et al., 1973; Pöckl, 1993) werden auch Algen und Aufwuchs als Nahrung von *G. fossarum* angenommen (Schmidt, 2003 und eigene Beobachtung in den Fließbrinnen). Im Gegensatz zur Situation bei der Körsch war der Phosphateintrag und damit der Nährstoffeintrag durch den Einleiter beim Lockwitzbach geringer und damit wahrscheinlich auch die Nahrungsversorgung für die Gammariden. Einerseits war dies wahrscheinlich der Grund, weshalb es keine gravierende Erhöhung der Abundanz an der unteren Probenahmestelle beim Lockwitzbach gab. Andererseits waren die Effekte auf die Reproduktion jedoch nicht stark genug, um sich in einer erniedrigten Abundanz an dieser Probenahmestelle zu manifestieren.

III POPULATIONSENTSUCHUNGEN MIT *GAMMA-RUS FOSSARUM* IM FLIESSRINNENEXPERIMENT

III.1 Einleitung

Der Einfluss von Bisphenol A auf verschiedene populationsrelevante Variablen bei *Gamma-rus fossarum* sollte im Fließbrinnenexperiment untersucht werden.

Zur Etablierung eines geeigneten Versuchsmediums wurde ein Vorversuch zur Hälterung von *G. fossarum* in verschiedenen künstlichen Medien durchgeführt. Außerdem wurde die akute Toxizität von Bisphenol A bei adulten und juvenilen Gammariden bestimmt. Im Fließbrinnenexperiment wurden Gammariden in unterschiedlicher Zusammensetzung (Paare, gruppenweise und als Population mit einer definierten Größenklassenverteilung) und in verschiedenen Expositionsarten (MTT, größere Expositionsgefäße, Fließrinne selbst) gegenüber Bisphenol A exponiert. Die Erfassung populationsrelevanter Parameter wie beispielsweise Mortalität, Brutentwicklungszeit und Anzahl juveniler Nachkommen pro Weibchen erfolgte während des Experiments in den MTTs und teilweise in den größeren Expositionsgefäßen. Bei Versuchsende wurde zusätzlich die Struktur der Populationen in den Fließbrinnen erfasst.

In den Freilanduntersuchungen (s. Kap. II.3.1) wurde in der Körsch eine etwa 2 °C höhere Wassertemperatur an der unterhalb des Einleiters aus dem Klärwerk gelegenen Probenahmestelle im Vergleich zu oberhalb bestimmt. Daher wurde gleichzeitig zum Fließbrinnenexperiment mit Bisphenol A eine Fließrinne ohne Applikation dieser Chemikalie auf eine Wassertemperatur von 17 °C eingestellt und die Entwicklung von *G. fossarum* untersucht. Durch Vergleich dieser Ergebnisse mit denen aus der Fließrinne K-15 sollte ein möglicher Einfluss der höheren Wassertemperatur auf *G. fossarum* beurteilt werden.

III.2 Material und Methoden

III.2.1 Aufgabenverteilung im Projekt

Die Aufgabenverteilung während des Fließrinnenexperiments ist in Tab. 15 dargestellt.

Tab. 15: Aufgabenverteilung beim Fließrinnenexperiment im Projekt Xehogamm.

Aufgabe	Personen
Hälterungsversuch	V. Ladewig, z.T. mit P. Petzsch
Akute Toxizitätstests	V. Ladewig
Einbringen von Sediment und Wasser in die Fließrinnen, tägliche Wartung, Erfassung physikalischer Variablen im Wasser	V. Ladewig, z.T. mit D. Jungmann
Etablierung von Aufwuchs in den Fließrinnen	V. Ladewig
Fang und Etablierung von <i>G. fossarum</i> in den Fließrinnen, Beendigung des Versuchs	A.M.I. Köhler, D. Jungmann, V. Ladewig, M. Schirling
Herstellung der Stammlösung, Applikation und HPLC-Analytik von Bisphenol A	K.-U. Ludwichowski
Erfassung chemischer Variablen im Wasser	V. Ladewig (unter Mithilfe von M. Schäffer)
Beprobung und Analyse von Aufwuchs	O. Licht
Untersuchungen von hsp70/90 bei <i>G. fossarum</i>	M. Schirling
Histologische Untersuchungen der Gonaden von <i>G. fossarum</i>	A.M.I. Köhler
Untersuchung populationsrelevanter Endpunkte bei <i>G. fossarum</i>	V. Ladewig

III.2.2 Fang von *G. fossarum*

Für alle Experimente wurden die Gammariden aus dem Zschonerbach (bei Dresden) an der Probenahmestelle unterhalb der Zschoner Mühle (Petzsch, 2002) entnommen. Die Tiere wurden mittels Kicksampling-Methode (Whitehurst & Lindsey, 1990; MacNeil et al., 2002) gesammelt. Dabei wurden die Gammariden mit einem Küchensieb (Maschenweite = 2 mm) gefangen. Nach jedem Fang wurden die Tiere in einen Kunststoffeimer (10 L) überführt, der mit Bachwasser gefüllt war. Grobe Partikel wie Zweige und Blätter wurden sofort entfernt. Die Tiere wurden in den mit Bachwasser gefüllten Eimern ins Labor transportiert.

III.2.3 Untersuchung zur Etablierung eines geeigneten Mediums (Hälterungsversuch)

Für die Untersuchungen in den Fließrinnen sollte ein Medium gefunden werden, das optimales Überleben, Wachstum und Reproduktion von *G. fossarum* gewährleistet. *G. fossarum* wurde im Labor zumeist in Bachwasser gehältert oder gezüchtet. So konnte beispielsweise Pöckl (1990) erfolgreich diese Spezies im Labor züchten, indem er Bachwasser als Medium verwendete. In Leitungswasser war dagegen die Mortalität sehr hoch (Pöckl, pers. Mitteilung). Dies wurde durch eigene Untersuchungen sowie von J. Schmidt und D. Jungmann (pers. Mitteilungen) und Petzsch (2002) bestätigt. Natürliches Bachwasser ist jedoch für ökotoxikologische Untersuchungen zum Einfluss einer Einzelsubstanz auf Organismen kein ideales Medium, da beispielsweise die unbekannte komplexe Matrix der Umweltchemikalien die Ergebnisse beeinflussen könnte.

In einem Versuch wurde daher die Hälterung von *G. fossarum* in folgenden Medien getestet: Medium nach Duft et al. (2002) mit Leitungswasser (2 Ansätze), Seradest (Reinstwasser) und MP2 (Reinstwasser) bzw. Medium nach Borgmann (1996) mit Leitungswasser und Seradest und Bachwasser. Der Ansatz mit Bachwasser diente hierbei als Kontrolle. Diese insgesamt 7 Ansätze wurden jeweils in einem Vollglasbecken durchgeführt. Jeder Versuchsansatz bestand aus einem Vollglasbecken, 2 Keramikkacheln ($L = 240 \text{ mm}$, $B = 120 \text{ mm}$, $H = 10 \text{ mm}$), ca. 0,5 kg Kieselsteine (Durchmesser 20 bis 40 mm) und 15 Liter Wasser. Jedes Becken wurde mit einem Belüftungsstein (Kieselgur, $30 \times 15 \times 15 \text{ mm}$) belüftet. Es wurde eine Luftpumpe (RenaAir 301) eingesetzt und der Luftstrom auf alle Becken verteilt. Die 7 Vollglasbecken standen in einem großen Aquarium ($H = 500 \text{ mm}$, $B = 2.500 \text{ mm}$, $T = 500 \text{ mm}$). Das Wasser in diesem Aquarium wurde mit einem externen Heiz-Kühlaggregat (RE 306, Lauda) und einer Kühlschleife (PVC-Schlauch, 40 m lang) auf $14 \text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2 \text{ }^{\circ}\text{C}$ temperiert. Mit Hilfe der Umwälzpumpe wurde das Wasser im großen Aquarium ständig bewegt. Damit das große Aquarium nicht zu schnell veralgte, wurde das Wasser durch einen Außenfilter (Außenfilter I; Fluval 403) geleitet. Mit Ausnahme des Bachwassers wurden alle Medien 2 Tage vor dem Wasserwechsel in Glasgefäßen angesetzt und bis zur Verwendung belüftet. Das Bachwasser (aus dem Zschonerbach) wurde in PE-Kanistern (10 L, Merck) ins Labor transportiert. Die Kanister waren zuvor mehrfach mit heißem Wasser ausgespült und mindestens 48 Stunden lang vor dem ersten Gebrauch gewässert worden. Wöchentlich wurden ca. 2 Drittel des Wassers gewechselt.

Die Tiere wurden im Labor mit Hilfe einer Schablone in die 3 Größenklassen S ($< 6 \text{ mm}$), M (6-9 mm) und L ($> 9 \text{ mm}$) sortiert. Aus der Anzahl der Tiere in den verschiedenen Größenklassen wurde die prozentuale Verteilung bestimmt. Entsprechend wurden pro Ansatz 80 S-, 25 M- und 20 L-Tiere (entspricht 64 %, 20 % und 16 %) eingesetzt.

Die Zählung der Gammariden und ihre Zuordnung zu den einzelnen Größenklassen erfolgte alle 4 Wochen. Hierbei wurden die Gammariden < 3 mm einer eigenen Größenklasse (XS) zugeordnet, um Rückschlüsse auf die Reproduktion zu ermöglichen. Gammariden mit einer Körperlänge zwischen 3 und 6 mm wurden zur Größenklasse S gezählt. Der Versuch wurde am 11.02.2002 begonnen. Aufgrund der Ergebnisse nach 4 Wochen wurden nur die Medien, die für einen Einsatz in den Fließrinnen sinnvoll schienen, sowie der Ansatz mit Bachwasser weiter untersucht. Diese Ansätze mit künstlichem Medium waren: einer der beiden Leitungswasseransätze mit den Zusätzen nach Duft et al. (2002) (zufällig ausgewählt) und das Leitungswasser mit den Zusätzen nach Borgmann (1996). Der Versuch wurde zusammen mit P. Petzsch im Rahmen seiner Diplomarbeit (Petzsch, 2002) begonnen und nach 8 Wochen von der Verfasserin weitergeführt. Nach 16 Wochen wurde der Versuch beendet.

III.2.3.1 Fütterung der Gammariden im Hälterungsversuch

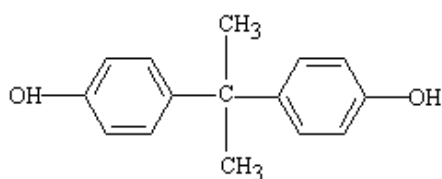
Zur Fütterung von *G. fossarum* wurden Blätter der Schwarzerle (*Alnus glutinosa*) verwendet, die von dieser Art bevorzugt gefressen werden (Haeckel et al., 1973). Die Blätter wurden an der unteren Probenahmestelle am Zschonerbach gesammelt. Sie wurden im Herbst sowohl vom Boden aufgelesen als auch vom Baum gepflückt und anschließend bei Raumtemperatur getrocknet. Vor der Verwendung wurden die Blätter mindestens 2 Wochen in Wasser konditioniert. Dadurch bildete sich ein Aufwuchs von Bakterien und Pilzen auf den Blättern. Mikrobieller Aufwuchs, insbesondere Hyphomyceten, wird als wichtiger Nahrungsbestandteil von Gammariden (erhöhter Stickstoffgehalt, verbesserte Verdaulichkeit) angesehen (Bärlocher, 1985). Um die aus den Blättern ausgetretenen Huminstoffe zu entfernen, wurde das Konditionierungswasser wöchentlich gewechselt. Vor der Fütterung wurden die Blätter noch einmal kurz gewässert.

Zu Beginn wurden etwa 8 bis 10 Blätter je Ansatz zugegeben. Die weitere Fütterung erfolgte je nach Bedarf. Es wurde gewartet, bis von der Hälfte der Blätter nur noch die Blattnerven übrig waren. In der 1. Woche wurde täglich gefüttert, in der 2. Woche alle 2 Tage und danach alle 3 bis 5 Tage mit jeweils 1 bis 2 Blättern pro Ansatz.

III.2.4 Wirkung von Bisphenol A auf *G. fossarum*

III.2.4.1 Testsubstanz

Die chemische Struktur der Testsubstanz Bisphenol A (2,2-Bis(4-hydroxyphenyl)propan; BPA; CAS 80-05-7) sowie einige charakterisierende Angaben können Abb. 35 entnommen werden.



Molekulargewicht:	228,29
Relative Dichte:	1,1 - 1,2 kg/m ³ (25 °C)
Schmelzpunkt:	150 - 157 °C
Dampfdruck:	5,3 x 10 ⁻⁹ kPa (25 °C)
Wasserlöslichkeit:	300 mg/L
log K _{OW} :	3,3 - 3,5

Abb. 35: Chemische Strukturformel und ausgewählte Eigenschaften von Bisphenol A. Angaben aus: European Commission - European Chemicals Bureau (2002).

Bisphenol A wird vor allem als Intermediärprodukt bei der Produktion von Polycarbonaten sowie von Härtern auf Epoxidbasis verwendet (Staples et al., 1998). Eine ausführliche Beschreibung der Verwendung von Bisphenol A kann dem „Final Draft“ des „Risk Assessment Report of Bisphenol-A“ entnommen werden (European Commission - European Chemicals Bureau, 2002). Die geschätzte Weltproduktion liegt bei etwa 2,5 Mio. Tonnen pro Jahr (Staples et al., 2002); innerhalb der EU bei etwa 700.000 Tonnen pro Jahr (European Commission - European Chemicals Bureau, 2002).

Bisphenol A ist eine lipophile Substanz mit einem log K_{OW} von etwa 3,4. Sein Potenzial zur Biokonzentration in aquatischen Organismen ist mit gemessenen BCF-Werten zwischen 5 und 68 bzw. geschätzten BCF-Werten zwischen 42 (über Wasserlöslichkeit berechnet) und 196 (über log K_{OW} berechnet) relativ gering (Staples et al., 1998). Gemäß U.S. EPA „standard evaluation procedure“ wird es als leicht bis mäßig toxisch für aquatische Organismen eingestuft (Alexander et al., 1988; Staples et al., 1998). Bereits seit 1936 ist die östrogene Wirkung von Bisphenol A bekannt (Dodds & Lawson, 1936). Seine östrogene Aktivität und Bindungsaffinität zum Östrogenrezeptor *in vitro* sind 1.000 - 5.000-fach niedriger verglichen mit 17β-Östradiol oder 17α-Ethinylöstradiol (Sonnenschein et al., 1995; Dodge et al., 1996; Routledge & Sumpter, 1996; Safe & Gaido, 1998). Sohoni & Sumpter (1998) wiesen zusätzlich eine

anti-androgene Wirksamkeit von Bisphenol A nach. Die Bindung von Bisphenol A an den Androgenrezeptor *in vitro* wurde auch von Fang et al. (2003) bestätigt.

Bisphenol A ist mäßig wasserlöslich und hat eine niedrige Flüchtigkeit (Staples et al., 1998). Anhand seiner physikalischen Eigenschaften wurde die Verteilung von Bisphenol A in der Umwelt mit Hilfe des multi-media Modells Mackay Level I abgeschätzt. Nach dieser Schätzung liegt Bisphenol A zu 52 % im Kompartiment Wasser, zu 25 % im Kompartiment Boden und zu 23 % im Kompartiment Sediment vor (Staples et al., 1998). Bisphenol A wird in der aquatischen Umwelt als leicht biologisch abbaubar und nicht persistent eingestuft (European Commission - European Chemicals Bureau, 2002). Sein Vorkommen in der Umwelt ist ubiquitär, Konzentrationen in Oberflächengewässern liegen im ng/L-Bereich (Staples et al., 1998; European Commission - European Chemicals Bureau, 2002). Bisphenol A wurde in den Freilanduntersuchungen an Lockwitzbach und Körsch in allen Proben nachgewiesen (Kap. II.3.2). Aufgrund der höheren Konzentration im Einleiter des jeweiligen Klärwerks lag Bisphenol A an der Probenahmestelle unterhalb jeweils in höherer Konzentration im Wasser vor als oberhalb des betreffenden Einleiters. Die höchste gemessene Konzentration betrug 89 ng/L Bisphenol A (bei Ku). In den letzten Jahren lagen in anderen Untersuchungen in deutschen Gewässern nachgewiesene Bisphenol A-Konzentrationen ebenfalls im ng/L-Bereich (maximal 780 ng/L) (Heemken et al., 2001; Bolz et al., 2001; Fromme et al., 2002; Stachel et al., 2003).

Die Ergebnisse aus den Freilanduntersuchungen waren einer der Gründe für die Wahl von Bisphenol A als Testsubstanz im Fließrinnenexperiment mit *G. fossarum*. Eine weitere Rolle für diese Wahl spielte, dass es zwar bereits viele Daten zur endokrinen Wirkung von Bisphenol A auf Organismen gibt, diese sich jedoch teilweise einander widersprechen (European Commission-European Chemicals Bureau, 2002). Den zahlreichen Vertebraten-Studien zur östrogenen Wirkung von Bisphenol A stehen relativ wenige Untersuchungen bei Invertebraten, insbesondere bei Crustaceen, gegenüber. Bei verschiedenen Prosobranchierarten (Gastropoda) führt Bisphenol A zum „Superweibchen“-Syndrom (Oehlmann et al., 2000; Duft et al., 2003; Jobling et al., 2003). Bei *Chironomus riparius* (Diptera) verzögerte sich durch den Einfluss von Bisphenol A die Emergenz der F2-Generation (Watts et al., 2001a). Tab. 16 bietet eine Zusammenstellung der teilweise widersprüchlichen Ergebnisse bisheriger Studien zur chronischen Wirkung dieser Chemikalie auf Crustaceen. Untersuchungen zur Wirkung von Bisphenol A in Mikro- und Mesokosmen, in denen im Gegensatz zu Studien mit einzelnen Spezies auch indirekte Effekte beobachtet werden können, liegen nicht vor.

Tab. 16: Literaturwerte zum subletalen Einfluss von Bisphenol A auf Crustaceen.

Spezies	Endpunkt	Beschreibung	Ergebnisse [µg/L]	Autoren
<i>Acartia tonsa</i>	Eiproduktionszunahme an Tag 10	NOEC LOEC	2 20	Andersen et al. (1999)
<i>Acartia tonsa</i>	Nauplienentwicklung	EC ₅₀ EC ₁₀	550 100	Andersen et al. (2001)
<i>Acartia tonsa</i>	Eiproduktionsabnahme An Tag 11-17	6 Tage EC ₁₀	ca. 20	Wollenberger et al. (2003)
<i>Tigriopus japonicus</i>	Nauplienentwicklung	21 Tage NOEC/LOEC	0,01/0,1	Marcial et al. (2003)
	Geschlechtsreife	NOEC/LOEC	0,1/1	
	Fekundität	NOEC	> 10	
	Geschlechterverhältnis	NOEC	> 10	
<i>Daphnia magna</i>	Häutung und Reproduktion	21 Tage NOEC	> 3.160	Caspers (1998)
<i>Gammarus pulex</i>	Präkopulaverhalten	24 h LOEC	8.400	Watts et al. (2001b)

III.2.4.2 Akute Toxizität von Bisphenol A für *G. fossarum*

III.2.4.2.1 Durchführung der akuten Toxizitätstests mit *G. fossarum*

Die Gammariden für die Bestimmung der akuten Toxizität von Bisphenol A stammten ebenfalls aus dem Zschonerbach. Sie wurden zur Akklimatisierung im Labor gehältert (Zschonerbachwasser, 15 °C, natürlicher Hell/Dunkel-Rhythmus, Fütterung *ad libitum* mit *Alnus glutinosa*).

Es wurden gleichzeitig zwei akute Toxizitätstests durchgeführt, einer mit adulten und einer mit juvenilen Gammariden. Aufgrund von Literaturdaten (Watts et al., 2001b) wurden die Nominalkonzentrationen 0,5; 1; 2; 4 und 8 mg/L Bisphenol A in Leitungswasser mit Zusätzen nach Borgmann (1996) geprüft. Die Testlösungen wurden in 250 mL-Bechergläsern (Merck) hergestellt. Vor Beginn der Versuche wurde die Sauerstoffsättigung und der pH-Wert in jeder Testlösung sowie in der Kontrolle mit Hilfe von entsprechenden Messsonden (Trioximatic 300 bzw. Einstabmesskette E 50-1.5) und eines Mehrparametermessgerätes (MultiLab P4, alles WTW) bestimmt. Pro Test wurden 10 Replikate pro Konzentration und Kontrolle angesetzt. Die Tiere wurden einzeln randomisiert in 15 mL-Rollrandgläser ohne Deckel (Merck) mit 10 mL Testlösung gegeben. Zusätzlich befanden sich 5 Glasperlen (d = 3 mm, Wagner & Munz) als Substrat für die Gammariden in jedem Rollrandglas. Die Testlösungen wurden während des Versuchs nicht ausgetauscht. Ebenso erfolgte keine Belüftung und keine Fütterung. Die Exposition fand in einem Brutschrank (Heraeus) über 96 h bei 15 °C und einem

Hell/Dunkel-Rhythmus von 12:12 h statt. Nach 24 h, 48 h, 72 h und 96 h wurden die Gamma-riden mit Hilfe eines SZ40-Binokulars (Olympus) untersucht. Die Letalität wurde anhand von zwei verschiedenen Endpunkten geprüft. Nach Watts et al. (2001b) wurde der Endpunkt Immobilisation (keine Reaktion bei mechanischer Reizung) verwendet. Der zweite Endpunkt war: Keine Bewegungen des gesamten Tieres oder einzelner Körperteile, insbesondere kein Pleopodenschlag. Für beide Endpunkte wurde die jeweilige LC_{50} (nach 24 h, 48 h, 72 h bzw. 96 h) berechnet. Am Ende der Versuche wurden die Testlösungen eines Ansatzes jeweils in einem 250 mL-Becherglas (Merck) vereinigt und die Sauerstoffsättigung und der pH gemessen.

III.2.4.2.2 Bestimmung der Bisphenol A-Konzentrationen in den akuten Toxizitätstests

Für die Bestimmung der Bisphenol A-Konzentrationen für die beiden akuten Toxizitätstests wurde pro Konzentration bzw. für die Kontrolle ein Rollrandglas ohne Tier, aber ansonsten gleich behandelt wie die Testansätze, mitgeführt. Zu Beginn der Versuche, nach 48 h und nach 96 h wurde die Bisphenol A-Konzentration in diesen Gefäßen von K.-U. Ludwichowski mittels HPLC (s. Kap. III.2.4.3.4) analysiert. Ab der Nominalkonzentration 2 mg/L mussten dafür die Proben verdünnt werden (2 mg/L: 1:20-Verdünnung; 4 mg/L: 1:40; 8 mg/L: 1:100).

III.2.4.3 Fließbrinnenexperiment mit *G. fossarum*

III.2.4.3.1 Allgemeine Beschreibung des Versuchsaufbaues im Fließbrinnenexperiment

Für das Experiment wurden 5 künstliche Fließbrinnen in einem Gewächshaus verwendet (Abb. 36).



Abb. 36: Verwendete Fließbrinnen im Gewächshaus. Blickrichtung ist stromaufwärts. Aus Jungmann et al. (2001a).

Der technische Aufbau und die Steuerung der Fließbrinnen sind in Jungmann et al. (2001a und 2001b) und Schmidt (2003) beschrieben. Aus Jungmann et al. (2004a) können Einzelheiten zum Versuchsaufbau im Fließbrinnenexperiment mit Bisphenol A entnommen werden. Daher wird im Rahmen der vorliegenden Arbeit nur ein kurzer Überblick über den Versuchsaufbau im Fließbrinnenexperiment gegeben. Die Fließbrinnen sind aus Edelstahl gefertigt und besitzen jeweils eine Fließstrecke mit den Abmessungen: Länge = 370 cm, Breite = 50 cm und Höhe = 20 cm. Das Wasser wird bei diesen Fließbrinnen vom Zirkulationstyp jeweils aus dem Auffangbecken mittels einer Pumpe in das Einströmbecken befördert und gelangt über die Fließstrecke wieder zurück in das Auffangbecken. Vor dem Auffangbecken befindet sich ein herausnehmbares Absperrgitter mit einer Maschenweite von 250 µm, um eine Abdrift von größeren Organismen aus der Fließstrecke zu verhindern. Die Fließgeschwindigkeit wurde auf 0,2 m/s, die Wassertemperatur bei 4 Fließbrinnen auf 15 ± 1 °C und bei einer Fließrinne auf 17 ± 1 °C eingestellt. Das Wasservolumen betrug etwa 500 L (genaue Angaben siehe Jungmann et al., 2004a), die Wassertiefe über der Fließstrecke 10 cm. Verdunstetes Wasser wurde während des Experiments durch Leitungswasser ersetzt. Die natürliche Lichteinstrahlung ins Gewächshaus wurde durch eine Beschattungsanlage reguliert, so dass die Lichtverhältnisse denen an Bächen mit Uferbewuchs entsprachen. In die Fließbrinnen wurde mit Leitungswasser gewaschenes Sediment (Kieswerk Ottendorf-Okrilla GmbH & Co. KG) mit einer Schichtdicke von ca. 2 cm eingebracht. Die Sedimentzusammensetzung und -verteilung in den Fließbrinnen ist in Abb. 37 dargestellt.



Abb. 37: Schematische Darstellung der Verteilung des Sedimentes. AB: Auffangbecken, EB: Einströmbecken, I: Sediment der Größenklasse \varnothing 8-16 mm, II: Sediment der Größenklassen \varnothing 2-8 mm (46%), \varnothing 8-16 mm (31 %) und \varnothing 16-32 mm (23%), frei: kein Sediment. Aus Jungmann et al. (2004a).

Die Fließbrinnen wurden mit Aufwuchs aus dem Zschonerbach angeimpft, der als autochthone Futterquelle diente. Anhand von ausgelegten Tonkacheln in den Fließbrinnen (s. Abb. 40) wurden von O. Licht Untersuchungen zur Dynamik des Aufwuchs während des Fließbrinnenexperiments durchgeführt. Methodik und Ergebnisse zu diesem Teil des Experiments sind in Jungmann et al. (2004a) und Licht et al. (im Druck) dargestellt.

Für die Untersuchungen von *G. fossarum* wurden verschiedene Expositionsgefäße in die Fließbrinnen gestellt. Pro Fließrinne wurde ein *Multi Tube Trap* (MTT) vollständig von Wasser bedeckt auf das Sediment gestellt. Der Aufbau eines MTTs ist in Abb. 38 wiedergegeben: Ein MTT besteht aus einer Grundplatte (V2A, $l = 210$ mm, $b = 180$ mm, $h = 3$ mm) auf der 15 Röhren (V2A, $d = 40$ mm, $h = 40$ mm, Wandstärke 2 mm) versetzt angeordnet sind. Jede Röhre hat zwei gegenüberliegende Öffnungen ($d = 30$ mm), in die Gaze eingeklebt ist (V2A, Maschenweite $250\text{ }\mu\text{m}$). Auf die Röhren wird eine Silikondichtung ($l = 210$ mm, $b = 180$ mm, $h = 1$ mm) mit Öffnungen ($d = 22$ mm) gelegt. Darüber folgt eine Gaze ($l = 210$ mm, $b = 180$ mm, Maschenweite $250\text{ }\mu\text{m}$). Abschließend wird eine Platte (V2A, $l = 210$ mm, $b = 180$ mm, $h = 2$ mm) mit Öffnungen ($d = 11$ mm) mit der Grundeinheit verschraubt (Schmidt, 2003).

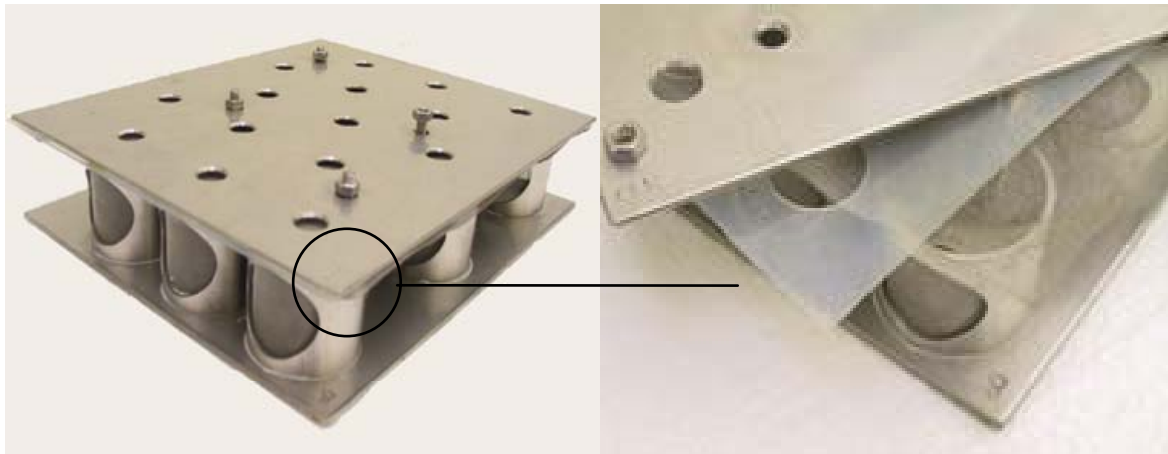


Abb. 38: *Multi Tube Trap* (MTT). Maße siehe Text, Fotos: D. Jungmann.

Für biochemische (hsp70 und 90) und histologische Untersuchungen an Gammariden durch die Kooperationspartner im Rahmen des Xehogamm-Projekts wurden pro Fließrinne 3 größere Expositionsgefäße eingesetzt. Diese werden im Folgenden als „Expositionsgefäße für biochemische/histologische Untersuchungen“ bezeichnet. In jedem dieser Expositionsgefäße wurden 26 Präkopula-Paare von *G. fossarum* exponiert. Abb. 39 zeigt den Aufbau solch eines Expositionsgefäßes, das auch für die weitere Exposition der F1-Generation der Paare aus den MTTs (s. Kap. III.2.4.3.8) benutzt wurde.



Abb. 39: Expositionsgefäß für biochemische/histologische Untersuchungen bei *G. fossarum* sowie für die F1-Generation aus den MTTs. Aus Jungmann et al. (2004a).

Die Abb. 40 zeigt den experimentellen Aufbau und die Lage des MTTs und der Expositionsgefäße innerhalb jeder Fließrinne. Die Blickrichtung ist „stromaufwärts“. Die Expositionsgefäße sind im Foto bei dieser Abbildung noch nicht vollständig. Nur die Petrischalen der Expositionsgefäße mit dem Sediment sind während der Vorlaufzeit eingesetzt worden, so dass sich der Aufwuchs auf dem Sediment etablieren konnte.

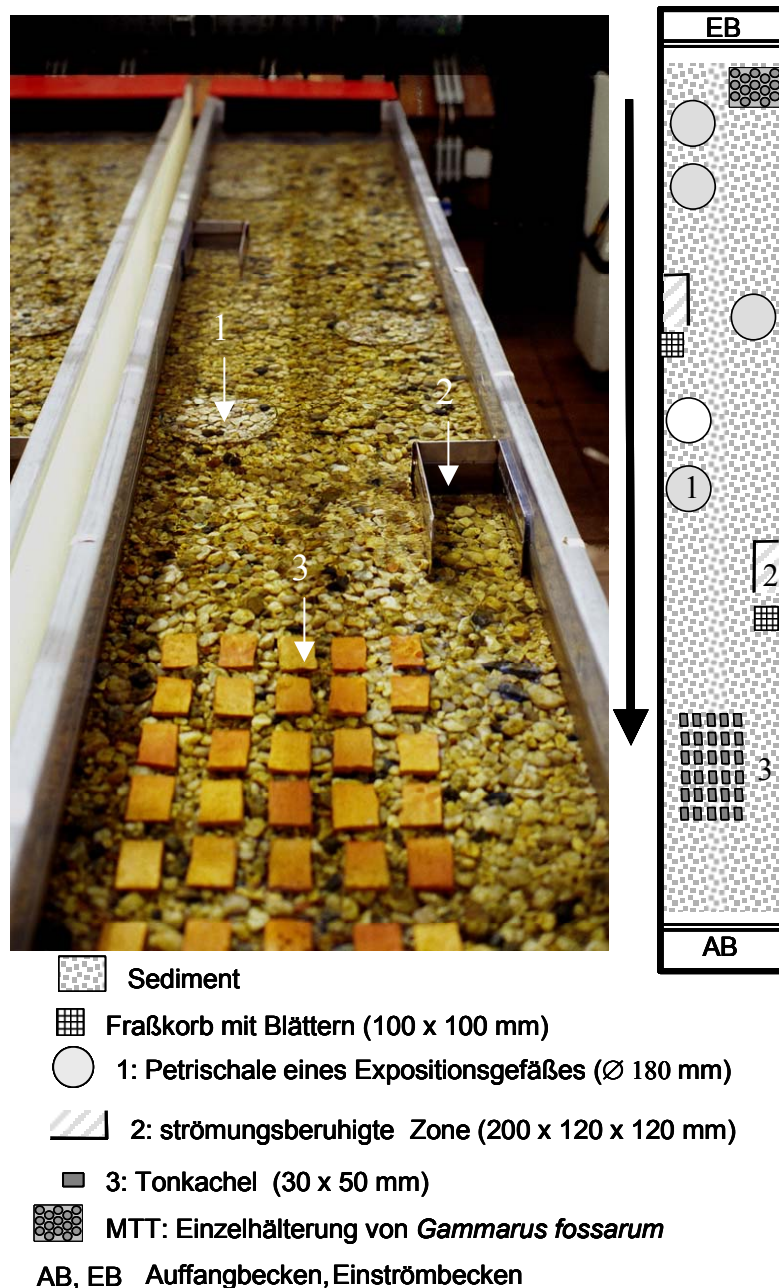


Abb. 40: Experimenteller Aufbau in einer Fließrinne während des Experimentes mit Bisphenol A. Der schwarze Pfeil zeigt die Fließrichtung. Aus Jungmann et al. (2004a).

Die Fließbrinnen werden im Folgenden gemäß ihrer Nominal-Konzentrationen von 5, 50 und 500 $\mu\text{g/L}$ Bisphenol A, sowie die Kontrolle mit 15 °C Wassertemperatur als K-15 und die Fließrinne mit 17 °C (ebenfalls ohne Bisphenol A-Applikation) als K-17 bezeichnet. Die Lage der Fließbrinnen zueinander im Gewächshaus stellt Abb. 41 schematisch dar.

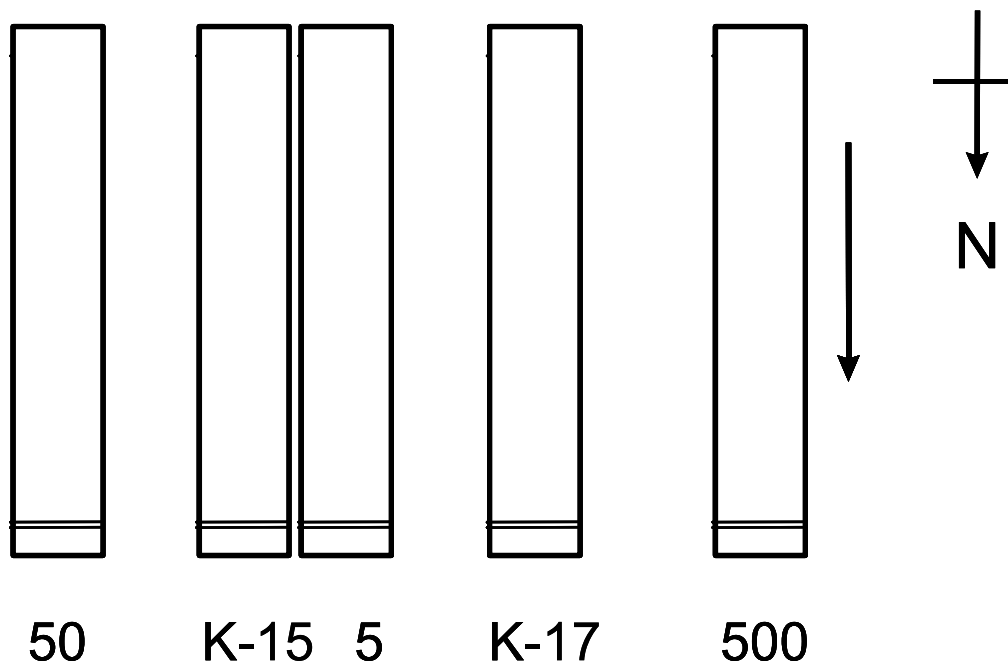


Abb. 41: Schematische Darstellung der Anordnung der Fließbrinnen im Gewächshaus (Aufsicht). Die Zahlen kennzeichnen die Soll-Konzentration von Bisphenol A in $\mu\text{g/L}$ zu Beginn des Versuchs in den Fließbrinnen (K-15 = Kontrolle 15 °C; K-17 = Kontrolle 17 °C), der Pfeil kennzeichnet die Fließrichtung des Wassers. Modifiziert nach Jungmann et al. (2004a).

III.2.4.3.2 Experimenteller Zeitplan

Der zeitliche Ablauf des Experiments ist in Tab. 17 zusammengefasst. Die Tage der Vorlaufzeit werden im Folgenden mit negativem Vorzeichen versehen. Tag 0 (t_0) kennzeichnet den Tag der erstmaligen Applikation von Bisphenol A (am 24.05.2002). Die Fließbrinnen wurden zum Zeitpunkt t_{21} mit aktivkohlefiltriertem Leitungswasser gefüllt. Entsprechend der Wasservolumina wurden die Zusätze des Mediums nach Borgmann (1996) in die Fließbrinnen gegeben. Durch den Betrieb der Fließbrinnen über 24 h wurde das Wasser belüftet, so dass Chlorid entweichen konnte. Danach wurde der Aufwuchs etabliert. Am 22.05.2004 (t_2) wurden die Gammariden eingesetzt. Etwa alle 5 Wochen (an t_{34} , t_{69} und t_{102}) wurde pro Fließrinne jeweils eines der 3 eingesetzten Expositionsgefäße für die biochemischen/histologischen Untersuchungen entnommen und beprobt. Das Fließbrinnenexperiment endete nach einer Expositionsdauer von 103 Tagen am 04.09.2002.

Tab. 17: Zeitlicher Ablauf des Fließbrinnenexperiments. Tage mit negativem Vorzeichen entsprechen den Tagen vor Applikation der Chemikalie (Vorlaufzeit des Experiments).

Versuchstag	Beschreibung
-28	Befüllen der Fließbrinnen mit Sediment
-21	Befüllen der Fließbrinnen mit Leitungswasser und Zugabe der Zusätze nach Borgmann (1996)
-20	Etablierung des Aufwuchses
-2	Besiedlung mit <i>G. fossarum</i>
0	Erstmalige Applikation von Bisphenol A
103	Versuchsende

III.2.4.3.3 Physikalisch-chemische Messungen

Die Nährstoffkonzentrationen im Wasser der Fließbrinnen wurden mit Schnelltests photometrisch und die Gesamt- sowie Carbonathärte titrimetisch bestimmt, wie in Kap. II.2.4 beschrieben. Durch Zugabe der entsprechenden Chemikalie im Verlauf des Experiments wurde eine Soll-Konzentration bestimmter Nährstoffe eingestellt, damit eine ausreichende Nährstoffversorgung des Periphytons gewährleistet war. Die Soll-Konzentrationen betrugen: Phosphat ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \times 5\text{H}_2\text{O}$) 50 $\mu\text{g/L}$, Silikat ($\text{Na}_2\text{SiO}_3 \times 5\text{H}_2\text{O}$) 2,7 mg/L sowie Nitrat (NaNO_3) >1 mg/L . Die Dynamik der chemischen Variablen wurde in einem 7-tägigen Messrhythmus erfasst. Die Variablen Sauerstoffgehalt, -sättigung, pH-Wert, Temperatur und Leitfähigkeit wurden jeden 4. Tag mit den in Kap. II.2.4 beschriebenen Messgeräten bestimmt.

III.2.4.3.4 Analytik und Applikation von Bisphenol A

Aufgrund von Literaturangaben zur subletalen (möglicherweise endokrinen) Wirkung von Bisphenol A auf andere Crustaceenarten (s. Tab. 16) sowie den Ergebnissen der akuten Toxizitätstests mit *G. fossarum* (Kap. III.3.2.1) wurden für das Fließbrinnenexperiment die Nominalkonzentrationen 5, 50 und 500 $\mu\text{g/L}$ Bisphenol A gewählt.

Für die Herstellung der Stammlösung von Bisphenol A zur Dotierung der Fließbrinnen wurden 400 mg Bisphenol A (97 % Reinheit; Aldrich) schrittweise mittels Ultraschall und Rühren (24 h) in 2 L Leitungswasser gelöst. In Abhängigkeit von der angestrebten Soll-Konzentration wurde das entsprechende Wasservolumen schrittweise in das Auffangbecken der jeweiligen Fließrinne gegeben. Wenn die Bisphenol A-Konzentration 80% der Startkonzentration unterschritt, wurde die entsprechende Menge im Anschluss an die wöchentliche Analytik auf 100 % zugegeben.

Die Analytik des Wassers der Fließbrinnen mit 50 µg/L und 500 µg/L Bisphenol A konnte ohne Anreicherung mittels HPLC erfolgen. Für die analytische Bestimmung des Bisphenol A im Wasser der Fließrinne 5 und den Kontrollen war nur eine Anreicherung von 30 mL Wasser mittels Festphasenextraktion (SPE) erforderlich. Die Nachweisgrenze betrug 1 µg/L für Fließrinne 5 und die Kontrollen bzw. 2,8 µg/L für Fließrinne 50 und 500. Details zur Methodik der Analyse von Bisphenol A sind in Jungmann et al. (2004a) zu finden.

III.2.4.3.5 Gammaridenpopulationen in den Fließbrinnen

Die Gammariden wurden noch am Fangtag (22.05.2002) im Labor mit Hilfe einer Schablone aus Millimeterpapier in die Größenklassen S (< 6 mm), M (6 - 9 mm) und L (> 9 mm) sortiert. Aus den entsprechenden Größenklassen wurden pro Fließrinne zufällig 80 S-, 70 M- und 50 L-Tiere entnommen und in die Fließbrinnen eingesetzt. Eine weitere Unterprobe von 200 Tieren dieser Größenklassenverteilung wurde ausgewählt und die Tiere einzeln in Eppendorfgläser (1,5 mL) in 75 % EtOH (vergällt) fixiert.

5x pro Woche wurden täglich (gegen 11 Uhr) gegen das Absperrgitter gedriftete lebende Tiere gezählt und zurück in die Fließbrinnen gesetzt.

Am Ende des Experiments wurde das Sediment aller Fließbrinnen vollständig durchgeseiht und die darin gefundenen Gammariden wurden ebenfalls in 75% EtOH (vergällt) einzeln fixiert. Folgende für die Populationsstruktur relevante Endpunkte wurden anhand dieser Tiere erfasst: Abundanz, Anteil Juveniler, Geschlechterverhältnis, Anzahl brütender Weibchen, Eizahl im Marsupium brütender Weibchen und Körperlänge. Diese Endpunkte wurden auch bei den Tieren aus der Unterprobe zum Zeitpunkt t_2 untersucht, um einen Anhaltspunkt für die Populationsstruktur der Startpopulationen zu erhalten.

III.2.4.3.6 Untersuchungen in MTTs (*Multi Tube Traps*)

Der Aufbau der MTTs (*Multi Tube Traps*) ist in Kap. III.2.4.3.1 beschrieben. Jedes MTT besteht aus 15 einzelnen Röhren. In jede Röhre wurde ein Präkopula-Paar von *G. fossarum* eingesetzt. Außerdem wurde in jede Röhre ein Kieselstein ($d = \text{ca. } 15 \text{ mm}$), sowie eine konditionierte Blattscheibe gegeben. Die MTTs wurden 2x wöchentlich kontrolliert. Dabei wurden die Überlebenden gezählt und das Auftreten und die Anzahl von Präkopulae, brütenden Weibchen und Juvenilen erfasst. Brütende Weibchen sind an der Färbung des Eigeleges im Marsupium mit bloßem Auge erkennbar: Nach der Ablage sind die Eier zuerst schwarz gefärbt, mit fortschreitender Embryonalentwicklung werden sie heller. Das letzte Embryonalstadium ist orange gefärbt. Nach dem Schlupf erscheinen die Juvenilen im Marsupium ebenfalls orange, bevor sie aus dem Marsupium entlassen werden. Daher ist eine Unterscheidung

zwischen dem letzten Embryonalstadium und den Juvenilen im Marsupium mit bloßem Auge nicht möglich.

Mit Hilfe einer Zahnbürste wurden die MTTs je nach Verschmutzung der Gaze gereinigt.

Bei Versuchsende wurden alle Überlebenden einzeln in Eppendorfgläser (1,5 mL) in 75 % EtOH (vergällt) fixiert. Die Untersuchung dieser Exemplare erfolgte wie bei den adulten Gammariden aus den Fließbrinnenpopulationen.

III.2.4.3.7 Untersuchungen der Gammariden in Expositionsgefäßen für biochemische/histologische Untersuchungen

Bei den Probenahmen für biochemische und histologische Untersuchungen wurden die überlebenden Adulten gezählt und ihr Nachwuchs pro Fließrinne in ein Rollrandglas (20 mL, Merck) mit 75 % EtOH (vergällt) fixiert. Später wurde die Anzahl der Juvenilen in diesen fixierten Proben bestimmt.

III.2.4.3.8 Untersuchungen der F1-Generation aus den MTTs

Für die Exposition der Bruten (F1-Generation) aus den MTTs wurden ebenfalls Expositionsgläser verwendet. In jeder Fließrinne wurden bei den regelmäßigen Kontrollen (Kap. III.2.4.3.6) alle Juvenilen aus dem MTT pro Brut jeweils in ein Expositionsgefäß überführt. Es konnten bis zu 4 aufeinanderfolgende Bruten beobachtet werden. Die Juvenilen wurden zum Zeitpunkt ihres ersten Auftretens mit Hilfe einer Glaspipette aus der betreffenden Röhre des MTT entnommen und in das Expositionsgefäß für die jeweilige Brut überführt.

Einmal pro Woche wurden die Expositionsgefäße mit den Bruten aus der Rinne entnommen und in einer PE-Fotoschale (28x22x6 cm, Merck) vollständig auseinandergenommen. Die Abundanzen der Juvenilen wurden bestimmt.

Am Ende des Experiments wurden die überlebenden Juvenilen pro Brut gezählt und einzeln in Eppendorfgläser (1,5 mL) in 75 % EtOH (vergällt) fixiert. Pro Tier wurden die Körperlänge und bei Adoleszenten das Geschlecht bestimmt.

III.2.4.3.9 Fütterung der Gammariden im Fließbrinnenexperiment

Zwei Wochen vor Besiedlung der Fließbrinnen mit *G. fossarum* wurden getrocknete Erlenblätter ca. 10 min. in Leitungswasser eingeweicht. Dann wurden Blattscheiben (Durchmesser = 28 mm) ausgestanzt. In Bechergläsern (500 mL) wurden die Blattscheiben 2 Wochen in Leitungswasser konditioniert, um die Besiedlung durch mikrobiellen Aufwuchs auf den Blattscheiben zu gewährleisten (Bärlocher, 1985). Während der Konditionierung wurde jedes Becherglas über einen Belüftungsstein (Kieselgur, 30x15x15 mm) belüftet. Die Luftzufuhr

erfolgte über eine Membranpumpe (RenaAir 301). Zum Zeitpunkt t_2 und im Folgenden alle 2 Wochen wurden weitere Blattscheiben ausgestanzt und in Bechergläsern (500 mL) in Wasser aus der jeweiligen Fließrinne konditioniert. Einen Tag vor Fütterung wurden jeweils etwa 80% des Wassers gegen frisches Wasser aus der entsprechenden Fließrinne ausgetauscht.

III.2.4.3.9.1 Fütterung der Fließrinnenpopulationen

Während des Experiments wurden pro Fließrinne in zwei Fraßkörben konditionierte Erlenblattscheiben *ad libitum* (ca. 30 - 40 Blattscheiben) den Gammariden als Futterquelle angeboten. Die Fraßkörbe (10x10x2 cm) bestanden aus V2A-Edelstahlgaze (Maschenweite = 5 mm) und wurden leicht ins Sediment eingegraben in die Fließrinnen gelegt (Abb. 40). Die Maschenweite gewährleistete, dass Gammariden in die Fraßkörbe einwandern konnten. Alle 14 Tage wurde das Futter gewechselt und qualitativ das Freßverhalten anhand der Anzahl und des Zustands der verbliebenen Blattscheiben erfasst.

III.2.4.3.9.2 Fütterung der Gammariden in den MTTs

Das Futter bestand pro Gammaridenpaar jeweils aus einer konditionierten Blattscheibe. Der Futterwechsel erfolgte ebenfalls alle 14 Tage. Aufgrund unterschiedlicher Freßraten wurden jedoch innerhalb der 14 Tage bei einigen Paaren neue Blattscheiben, die aus den Fraßkörben der jeweiligen Fließrinne stammten, hinzugegeben, wenn über 80 % der alten Blattscheibe bereits verzehrt waren. Auch bei diesen Paaren wurde das Futter alle 14 Tage vollständig ausgetauscht.

III.2.4.3.9.3 Fütterung der juvenilen Gammariden in den Expositionsgefäßen

Juvenile Gammariden ernähren sich von Faeces der Adulten (Pieper, 1978; McCahon & Pascoe, 1988). Als Futter für die Juvenilen wurden daher Faeces aus den MTTs genutzt. Da diese nicht in ausreichender Menge zur Verfügung standen, wurden im weiteren Verlauf des Experiments auch Faeces (1 - 2x pro Woche etwa 5 - 10 Pipettenfüllungen = 1 - 2x pro Woche ca. 30 mL) aus den Expositionsgefäßen für die biochemischen/histologischen Untersuchungen an die Bruten aus den MTTs verfüttert. Nach 4 Wochen wurden zusätzlich zwei konditionierte Blattscheiben als Futter angeboten. Bei Bedarf wurden weitere Blattscheiben an die Bruten verfüttert. Nach dem Zusammenbau der Expositionsgefäße an den Zähltagen wurden die Juvenilen mit 5 Pipettenfüllungen Faeces aus den Expositionsgefäßen für die biochemischen/histologischen Untersuchungen gefüttert.

III.2.4.3.10 Erfassung populationsrelevanter Parameter bei den fixierten Gammariden

Die Gammariden wurden mit Hilfe eines Wild-Binokulars (Leica) bei max. 30-facher Vergrößerung untersucht. Die Identifizierung der Art und des Geschlechts sowie die Messung der

Körperlänge erfolgte wie in Kap. II.2.6.6 beschrieben. Zusätzlich wurden die Eier im Marsupium brütender Weibchen gezählt.

III.2.4.4 Statistische Methoden

Für die Berechnungen wurden die Programme EXCEL '97, STATISTICA 5.0 und ToxRat Professional 2.07 (ToxRat[®] Solutions GmbH, 2002) verwendet.

Zur quantitativen Charakterisierung der Effekte von Chemikalien auf Organismen werden in der Ökotoxikologie verschiedene Kenngrößen angegeben. Bei akuten letalen Effekten wird eine LC_{50} (mittlere „lethal concentration“ - die Konzentration einer Chemikalie, bei der 50 % der exponierten Tiere sterben) angegeben. Für akute subletale Effekte wird die EC_{50} (mittlere „effect concentration“ - die Konzentration einer Chemikalie, bei der ein Effekt von 50 % auftritt) angegeben. Als Kenngrößen in chronischen Tests dienen einerseits die NOEC („no observed effect concentration“ – höchste Testkonzentration, die noch keinen signifikanten Effekt hervorruft) und die LOEC („lowest observed effect concentration“ – Testkonzentration, die gerade noch einen signifikanten Effekt hervorruft). Andererseits können auch EC_x -Werte zur Abschätzung der chronischen Toxizität berechnet werden. Für die Risikoabschätzung wird häufig die EC_{10} als „sichere Konzentration“ anstelle der NOEC verwendet. Obwohl die Angabe einer NOEC von vielen Test-Guidelines verlangt wird, wurde diese Vorgehensweise von zahlreichen Biostatistikern kritisiert (Chapman et al., 1996; Suter II, 1996). Demnach kann die NOEC nicht als „sichere“ Konzentration gelten. Beispielsweise hängt die NOEC stark von der Präzision des Experiments (z.B. Wahl der Testkonzentrationen), dem benutzten Signifikanztest und vom Signifikanzniveau ab. Die Verwendung von EC_x -Werten auch in chronischen Tests anstelle der NOEC bietet eine Reihe von Vorteilen, darunter die folgenden (Chapman et al., 1996): Die EC_x ist nicht beschränkt auf die verwendeten Testkonzentrationen, das zur Kalkulation der EC_x verwendete Regressionsmodell erlaubt die Charakterisierung der gesamten Antwort eines Organismus auf einen toxischen Einfluss in allen Konzentrationsbereichen sowie konkrete Angaben über die zu erwartende Stärke des Effekts einer bestimmten Konzentration und ist flexibel genug, um auch auf nichtmonotone Konzentrations-Wirkungs-Beziehungen angewendet werden zu können.

Durch den LogRank-Test wurden die Überlebenszeiten adulter Gammariden in den MTTs auf signifikante Unterschiede geprüft (Sachs, 1997). Das Verhältnis der Häufigkeit von Juvenilen zu Adulten sowie das Geschlechterverhältnis in den Populationen wurde mit Hilfe des χ^2 -Tests auf signifikante Unterschiede untersucht (Köhler et al., 1995). Unterschiede in der Körperlänge sowie in der Brutentwicklungszeit wurden mit dem Shapiro-Wilks-Test auf Normalverteilung geprüft. Da die Werte nicht normalverteilt waren, wurde die Signifikanz von Unterschieden zwischen den Fließrinnen mit Bisphenol A- Behandlung und der Kontrolle mit der Kruskal-Wallis-ANOVA und anschließendem Mann-Whitney U-Test mit Bonferroni-

Korrektur getestet. Die Bonferroni-Korrektur ist eine Methode, die es erlaubt, multiple Vergleiche mit dem eigentlich für den paarweisen Vergleich konzipierten Mann-Whitney U-Test durchzuführen (Zöfel, 2001). Ebenso wurden Unterschiede in der Brutentwicklungszeit zwischen den Bruten innerhalb einer Fließrinne auf ihre Signifikanz getestet. Im Falle des ausschließlichen paarweisen Vergleichs zwischen den beiden Fließrinnen ohne Bisphenol A wurde nur der Mann-Whitney U-Test eingesetzt. Das Signifikanzniveau wurde mit $p < 0,05$ festgelegt bzw. beim Shapiro-Wilks-Test mit $p > 0,2$.

Eine Einschränkung muss bei den Ergebnissen der Signifikanztests gemacht werden: Nach Hurlbert (1984) sollte schließende Statistik nicht auf Pseudoreplikate angewendet werden. Nach seiner Definition können die Messungen oder Proben aus einer Fließrinne als Pseudoreplikate angesehen werden. Beispielsweise handelte es sich bei den 15 Weibchen im MTT einer Fließrinne um Pseudoreplikate. Pro Testkonzentration wurde nur 1 echtes Replikat, nämlich eine Fließrinne, verwendet. Eine Signifikanz des Effekts von Bisphenol A kann daher nicht geprüft werden. Signifikante Unterschiede in der vorliegenden Arbeit zeigen folglich Unterschiede zwischen den Fließrinnen („locations“ im Sinne Hurlberts, 1984), nicht einen signifikanten Effekt von Bisphenol A.

Zusätzlich zu den allgemeinen Nachteilen einer NOEC/LOEC-Berechnung ist dies ein weiterer Grund, weshalb statt NOEC/LOEC-Werten EC_x -Werte für verschiedene populationsrelevante Endpunkte im Fließrinnenexperiment in der vorliegenden Arbeit aufgeführt werden. EC_x - bzw. LC_{50} -Werte wurden mittels Probit-Analyse unter Verwendung des Statistikprogramms ToxRat Professional 2.07 berechnet (Litchfield & Wilcoxon, 1949; Weber, 1972). Neben der EC_{10} wird im Fließrinnenexperiment mit *G. fossarum* auch die EC_{50} angegeben. Dies ist aufgrund der hohen Variabilität der Messwerte angebracht, da die EC_{50} den robustesten Wert darstellt.

III.3 Ergebnisse und Diskussion

III.3.1 Untersuchung zur Etablierung eines geeigneten Mediums (Hälterungsversuch)

Im Hälterungsversuch zur Etablierung eines geeigneten Fließbrinnenmediums wurden in den ersten 4 Wochen 7 Ansätze mit verschiedenen Medien getestet. Am Beginn des Versuchs waren jeweils 125 Gammariden verschiedener Größenklassen eingesetzt worden. Die Gesamtabundanzen von *G. fossarum* nach 4 Wochen Dauer sind in Tab. 18 dargestellt. Die wenigsten Gammariden (129 Tiere) wurden bei dieser Zählung in einem der beiden Ansätze mit Leitungswasser plus Zusätzen nach Duft et al. (2002) gefunden. Mit 228 Tieren wurden im Ansatz Leitungswasser plus Zusätze nach Borgmann (1996) die meisten Tiere gezählt. Im Mittel lebten 161 Gammariden pro Becken nach 4 Wochen Versuchsdauer, im Zschonerbachwasseransatz (Kontrolle) 133 Gammariden.

Tab. 18: Abundanzen von *G. fossarum* im Hälterungsversuch nach 4 Wochen Versuchsdauer.

Ansatz	LW+B	Sera+B	LW+D 1	LW+D 2	Sera+D	MP2+D	Zsch
Abundanz	228	145	129	142	210	136	133

LW: Leitungswasser; Sera: Seradest-Wasser; MP2: MP2-Wasser; Zsch: Bachwasser vom Zschonerbach; +B: Zusätze nach Borgmann (1996); +D: Zusätze nach Duft et al. (2002), Ansatz 1 und 2

In allen Ansätzen fand Reproduktion statt. Die Reproduktion war im Ansatz Leitungswasser plus Zusätze nach Borgmann (1996) und im Seradest-Wasser plus Zusätze nach Duft et al. (2002) besonders hoch. Dadurch kam es in diesen beiden Ansätzen zu einer höheren Gesamtabundanz im Vergleich zu den übrigen Ansätzen. Da ein Teil der in den ersten Wochen geschlüpften Juvenilen bereits vor Beginn des Versuchs sich im Marsupium der Weibchen entwickelte, spiegelten die Schwankungen in der Abundanz zu diesem frühen Zeitpunkt nicht zwangsläufig Unterschiede der Medien wider. Die 7 Ansätze waren folglich bezüglich des Überlebens der Gammariden ähnlich.

Aufgrund der Ergebnisse wurden nur die Medien weiter getestet, die für einen Einsatz in den Fließbrinnen sinnvoll erschienen. Dabei handelte es sich um einen der beiden Ansätze mit Leitungswasser plus Zusätze nach Duft et al. (2002) und den Ansatz mit Leitungswasser plus Zusätze nach Borgmann (1996). Als Kontrolle wurde der Ansatz mit Bachwasser ebenfalls weiter beobachtet.

Bereits bei der Zählung nach 8 Wochen war im Leitungswasser plus Zusätze nach Duft et al. (2002) ein Rückgang der Abundanz an Gammariden zu verzeichnen (Tab. 19).

Tab. 19: Abundanzen von *G. fossarum* in den 3 weitergeführten Ansätzen im Verlauf des Hälterungsversuchs.

Ansatz	Wochen				
	0	4	8	12	16
Zsch	125	133	202	186	150
LW+D 1	125	129	76	44	21
LW+B	125	228	372	340	353

Zsch: Bachwasser vom Zschonerbach; LW: Leitungswasser; +D 1: Zusätze nach Duft et al. (2002), Ansatz 1; +B: Zusätze nach Borgmann (1996)

Diese Tendenz verstärkte sich im weiteren Verlauf des Experiments, bis am Ende nur noch 21 Tiere in diesem Becken vorhanden waren. Im Bachwasseransatz wurden nach 8 Wochen die meisten Individuen gezählt (202 Tiere). Danach erfolgte zwar auch hier eine Abnahme der Abundanz, sie lag jedoch am Ende des Experiments nach 16 Wochen mit 150 Gammariden immer noch in der Größenordnung der Startpopulation. Im Leitungswasser plus Zusätze nach Borgmann (1996) lag die höchste Abundanz ebenfalls nach 8 Wochen vor. Mit 372 Gammariden war dies die größte Anzahl an Tieren überhaupt, die während des Versuchs in einem Becken gefunden wurde. Die Zahl der Tiere blieb auch nach 12 und 16 Wochen mit leichten Schwankungen hoch, so dass am Ende des Versuchs in diesem Ansatz mit 353 Tieren mehr als doppelt so viele Tiere wie im Bachwasseransatz vorhanden waren.

Betrachtet man die Populationsentwicklung anhand der Größenklassenverteilung in Abb. 42, so ist zu erkennen, dass in der Kontrolle (Wasser vom Zschonerbach) ein Teil der S-Tiere nach 8 Wochen in die Größenklasse M hineingewachsen ist. Bei Größenklasse XS handelt es sich um Tiere mit einer Körperlänge kleiner 3 mm, also um Juvenile, die etwa im Zeitraum zwischen zwei Zählterminen geschlüpft sein müssen. Da bereits nach 4 Wochen und ab dann bis zum Versuchsende Tiere der Größenklasse XS vorhanden waren, muss folglich Reproduktion stattgefunden haben. Gegenüber der Startpopulation wurden nur die L-Tiere zum Ende des Experiments weniger. Möglicherweise handelte es sich hierbei jedoch nur um Schwankungen, die bei einer Weiterführung des Experiments über 16 Wochen hinaus aufgrund der Neurekrutierung aus den kleineren Größenklassen wieder ausgeglichen worden wären.

Im Leitungswasser plus Zusätze nach Duft et al. (2002) waren ab 4 Wochen bis zum Ende des Versuchs Tiere der Größenklasse XS vorhanden. Nach 16 Wochen wurde allerdings nur noch 1 XS-Tier gefunden. Der starke Rückgang der Anzahl der XS-Tiere ging mit einem Rückgang der Abundanz auch in allen anderen Größenklassen einher. Die verringerte Reproduktion ließ sich folglich zumindest teilweise auf die hohe Mortalität der Adulten zurückführen.

Im Leitungswasser plus Zusätze nach Borgmann (1996) kam es ab dem Zähltermin nach 8 Wochen zu einem außerordentlich starken Anstieg der Reproduktion, was an der hohen Abundanz in der Größenklasse XS zu erkennen war. Hingegen blieben die Anzahlen der Tiere in

den anderen Größenklassen etwa auf dem Niveau der Anzahlen in der Startpopulation. Da mit dem Ansatz Leitungswasser plus Zusätze nach Borgmann (1996) die besten Resultate bezüglich Gesamtabundanz und Reproduktion erzielt worden waren, wurde dieses Medium für die Verwendung im Fließbrinnenexperiment ausgewählt.

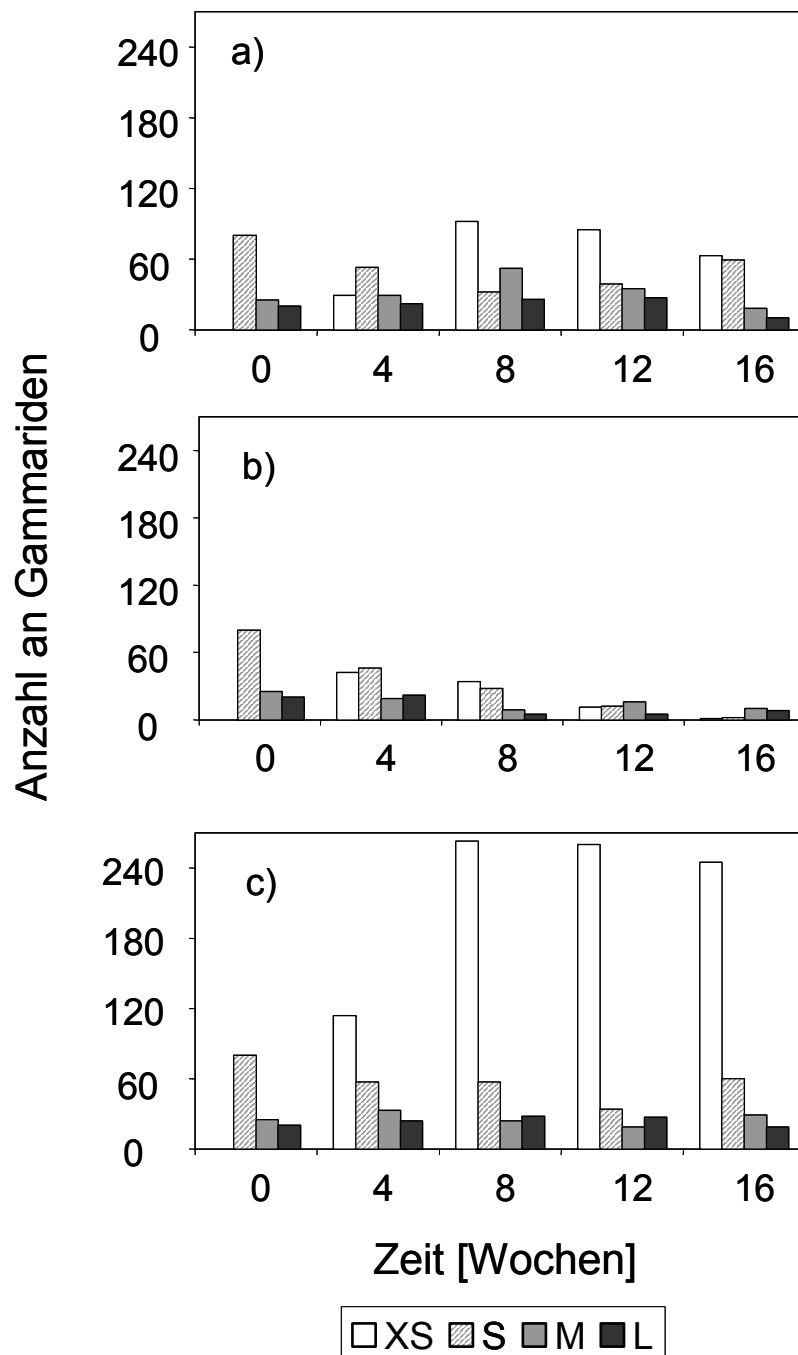


Abb. 42: Populationsentwicklung von *G. fossarum* über 16 Wochen im Hälterungsversuch. Dargestellt ist die Anzahl der Gammariden in den 4 Größenklassen. a) Kontrolle mit Zschonerbachwasser, b) Ansatz mit Medium nach Duft et al. (2002) und c) Ansatz mit Medium nach Borgmann (1996).

III.3.2 Wirkung von Bisphenol A

III.3.2.1 Akute Toxizität von Bisphenol A für *G. fossarum*

Die akute Toxizität von Bisphenol A für *G. fossarum* wurde bestimmt, um im Fließrinnenexperiment bei entsprechend gewählten niedrigeren Konzentrationen letale Effekte ausschließen zu können. Toxikologische Endpunkte für die akute Letalität waren der fehlende Pleopodenschlag bzw. Immobilisation (keine Fluchtreaktion bei mechanischer Reizung). Die eingesetzten Nominalkonzentrationen von Bisphenol A waren 0,5; 1; 2; 4 und 8 mg/L.

In Tab. 20 werden die gemessenen Bisphenol A-Konzentrationen und die Nominalkonzentrationen aufgeführt. Die gemessenen Konzentrationen entsprachen zwischen 101 und 122 % der jeweiligen Nominalkonzentration. Daher wurden die LC₅₀-Werte mit den Nominalkonzentrationen für die Endpunkte in Tab. 21 (Endpunkt: Immobilisation) bzw. in Tab. 22 (Endpunkt: kein Pleopodenschlag) berechnet.

Tab. 20: Bisphenol A-Konzentrationen im akuten Toxizitätstest mit *G. fossarum*.

Nominalkonz. [mg/L Bisphenol A]	Ist-Konzentration [mg/L Bisphenol A]		
	t ₀	t ₄₈	t ₉₆
Kontrolle	n.d.	n.d.	n.d.
0,5	0,52	0,58	0,61
1	1,01	1,04	1,08
2	2,15	2,21	2,04
4	4,55	4,28	4,35
8	8,61	8,55	9,21

n.d.: nicht detektiert, Nachweisgrenze bei 2,8 µg/L Bisphenol A

Tab. 21: Anzahl der Gammariden ohne Fluchtreaktion (Immobilisation) im akuten Toxizitätstest mit Bisphenol A [mg/L]. n = 10 pro Ansatz; K: Kontrolle.

		Ansatz [mg/L Bisphenol A]					
		K	0,5	1	2	4	8
Stadium	Dauer [h]	Anzahl immobilisierter Tiere pro Ansatz					
Juvenile	24	0	0	0	0	2	5
	48	0	0	1	1	2	6
	72	0	1	3	1	6	9
	96	0	1	3	1	8	9
Adulte	24	1	0	0	1	0	5
	48	1	0	0	1	1	8
	72	1	1	0	3	5	10
	96	2	1	3	4	9	10

Tab. 22: Anzahl der Gammariden ohne Pleopodenschlag im akuten Toxizitätstest mit Bisphenol A [mg/L]. n = 10 pro Ansatz; K: Kontrolle.

		Ansatz [mg/L Bisphenol A]					
		K	0,5	1	2	4	8
Stadium	Dauer [h]	Anzahl der Tiere ohne Pleopodenschlag pro Ansatz					
Juvenile	24	0	0	0	0	1	2
	48	0	0	1	1	1	3
	72	0	1	1	1	2	6
	96	0	1	3	1	4	8
Adulte	24	1	0	0	1	0	5
	48	1	0	0	1	1	8
	72	1	1	0	2	3	10
	96	2	1	2	3	5	10

In der Kontrolle überlebten bis zum Ende des Tests nach 96 h alle (Juvenile) bzw. 80 % (Adulte) der eingesetzten Tiere (Tab. 22). Die Sauerstoffsättigung in den Ansätzen betrug am Anfang des Experiments im Mittel 108 % ($\pm 1,2$ Standardabweichung) und am Ende im Mittel 110 % ($\pm 3,9$ Standardabweichung). Der pH-Wert lag am Anfang des Experiments im Mittel bei 8,2 ($\pm 0,02$ Standardabweichung), und am Ende im Mittel bei 7,8 ($\pm 0,04$ Standardabweichung). Sauerstoffsättigung und pH waren in einem Bereich, der das Überleben von *G. fossarum* nicht beeinträchtigt (Vobis, 1973; Foeckler & Schrimpf, 1985).

Die berechneten LC_{50} -Werte sind in Tab. 23 und Tab. 24 aufgeführt. Für die Berechnung einer LC_{50} werden im Allgemeinen mindestens 3 Werte zwischen 0 und 100 % benötigt. Mit Hilfe der sogenannten „Fudging“-Option in ToxRat können jedoch auch Konzentrationen mit 0 oder 100 % Mortalität in die Berechnungen miteinbezogen werden. Teilweise war es notwendig oder möglich, diese Option zu verwenden (in Tab. 23 und Tab. 24 angegeben). Aus mathematischen Gründen war eine Berechnung der 95%-Konfidenzintervalle nur teilweise möglich. In allen Fällen wurde χ^2 gehalten.

Bis auf eine Ausnahme (Juvenile, nach 48 h in Tab. 24) ist eine zeitliche Abhängigkeit der Wirkung von Bisphenol A erkennbar, da die LC_{50} jeweils mit steigender Expositionsdauer sank.

Vorrangiges Ziel der Untersuchung war die Ermittlung einer LC_{50} (96h) bei den Adulten. Verwendet man nach Watts et al. (2001b) als Letalitätskriterium die Immobilisation, so ergab sich für die adulten *G. fossarum* eine LC_{50} von 1,87 mg/L Bisphenol A. Dieser Wert stimmte gut mit den Angaben bei *G. pulex* (ca. 1,9 mg/L Bisphenol A) (Watts et al., 2001b) überein. Die dazugehörige Konzentrations-Wirkungs-Kurve ist in Abb. 43a) dargestellt.

Tab. 23: Akute Toxizität von Bisphenol A [mg/L] für juvenile und adulte *G. fossarum* unter Verwendung des Endpunkts Immobilisation. 95 %-Konfidenzgrenzen [mg/L], z.T. nicht berechenbar (n.b.); mit (X) und ohne (-) Fudging.

Stadium	Dauer [h]	LC ₅₀ (Immobilisation)	Untere Konfidenzgrenze	Obere	Fudging
Juvenile	24	7,91	7,05	9,28	X
	48	6,86	4,89	15,85	X
	72	3,34	n.b.	n.b.	-
	96	2,88	n.b.	n.b.	-
Adulte	24	8,00	n.b.	n.b.	X
	48	6,07	4,63	7,37	X
	72	3,36	0,61	21,44	X
	96	1,87	0,83	4,20	X

Tab. 24: Akute Toxizität von Bisphenol A [mg/L] für juvenile und adulte *G. fossarum* unter Verwendung des Endpunkts „kein Pleopodenschlag“. 95 %-Konfidenzgrenzen [mg/L], z.T. nicht berechenbar (n.b.); mit (X) und ohne (-) Fudging.

Stadium	Dauer [h]	LC ₅₀ (kein Pleopodenschlag)	Untere Konfidenzgrenze	Obere	Fudging
Juvenile	24	21,44	13,43	119,03	X
	48	25,23	n.b.	n.b.	X
	72	6,86	n.b.	n.b.	-
	96	4,37	n.b.	n.b.	-
Adulte	24	8,00	n.b.	n.b.	X
	48	6,07	4,63	7,37	X
	72	4,61	n.b.	n.b.	X
	96	4,20	3,18	6,79	-

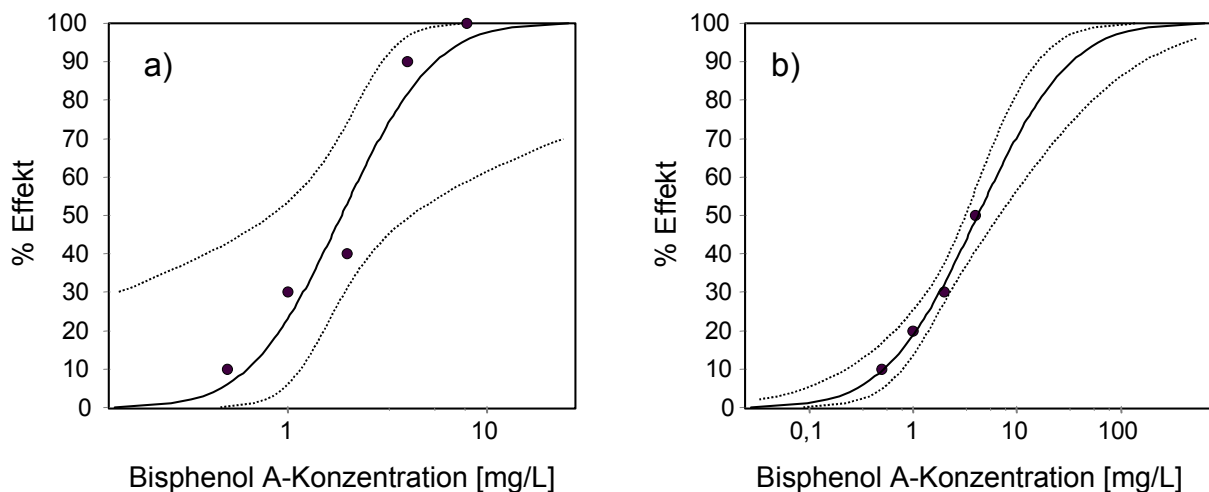


Abb. 43: Konzentrations-Wirkungs-Kurve (durchgezogene Linie) des letalen Effekts von Bisphenol A nach 96 h Exposition a) auf den Endpunkt Immobilisation und b) auf den Endpunkt „kein Pleopodenschlag“ bei adulten *G. fossarum*. Gepunktete Linien: untere und obere 95 %-Konfidenzbereichsgrenzen; a) p (χ^2) = 0,977; p (F) = 0,025; r^2 = 0,838; b) p (χ^2) = 0,997; p (F) = 0,007; r^2 = 0,986.

Die LC_{50} (96 h) für die Toxizität bei den Juvenilen lag mit 2,88 mg/L etwas höher, jedoch in derselben Größenordnung. Nach McCahon & Pascoe (1988) und Naylor et al. (1990) reagieren juvenile Gammariden empfindlicher als adulte auf toxische Substanzen, dies wurde durch die vorliegenden Ergebnisse nicht bestätigt. Auch Stephenson (1983) fand keine Unterschiede im Einfluss von Chemikalien auf verschiedene Größenklassen bei Gammariden. Allerdings benutzte er eine sehr grobe Einteilung von nur zwei Klassen (< oder > 5 mm Körperlänge). Maltby (1995) hingegen stellte fest, dass Juvenile weniger empfindlich gegenüber einigen Stressoren reagieren als adulte Gammariden.

Bei Betrachtung unter dem Binokular zeigte sich, dass manche scheinbar bewegungslose, nicht bei mechanischer Reizung mit Fluchtbewegungen reagierende Gammariden noch lebten. Diese Tiere zeigten kleine Bewegungen der Antennen und Gliedmaßen. Gammariden müssen mit ihren Pleopoden schlagen, um frisches Wasser zu den Kiemen zu befördern (Schellenberg, 1942; Ponyi, 1956). Ohne Pleopodenschlag, d.h. ohne Atmung kann das Tier nicht überleben. Daher wurde als weiterer letaler Endpunkt der fehlende Pleopodenschlag festgelegt. Auf diese Weise wurde z.B. eine LC_{50} von 4,20 mg/L Bisphenol A bei den Adulten nach 96 h erhalten. Die dazugehörige Konzentrations-Wirkungs-Kurve ist in Abb. 43b) dargestellt. Weitere Ergebnisse können Tab. 24 entnommen werden.

In den ersten 48 h des Tests war der Unterschied zwischen beiden Arten von LC_{50} -Ermittlungen bei den Juvenilen größer als bei den Adulten. Mehr Juvenile als Adulte zeigten zwar keine Fluchtreaktion, aber kleinste Bewegungen einzelner Körperteile. Nach 96 h waren die LC_{50} -Werte einander angeglichen, die LC_{50} für den Endpunkt „kein Pleopodenschlag“ war

nur noch etwa doppelt so hoch wie die LC_{50} für die Immobilisation. Zumindest nach 96 h Testdauer lagen alle LC_{50} -Werte in einem ähnlichen Bereich. Anhand der Steigung der Konzentrations-Wirkungskurven in Abb. 43 lässt sich erkennen, dass bei Adulten der Endpunkt Immobilisation nach 96 h ein schärferes Ergebnis als der Endpunkt „kein Pleopodenschlag“ lieferte. Keines der immobilisierten Tiere erholte sich während der Exposition. Eine Erholung nach Exposition gegenüber der Chemikalie wurde nicht untersucht, jedoch zeigten viele der zuerst nur immobilen Tiere im weiteren Verlauf des Tests auch keinen Pleopodenschlag mehr.

Der toxikologische Endpunkt Immobilisation ist weniger zeitintensiv und führt zu schärferen Ergebnissen als der toxikologische Endpunkt „kein Pleopodenschlag“.

Die höchste im Fließbrinnenexperiment eingesetzte Nominalkonzentration von Bisphenol A ($500\text{ }\mu\text{g/L}$) entsprach etwa einem Viertel der niedrigsten LC_{50} (96 h) im akuten Toxizitätstest. Die höchste Effektivkonzentration im Fließbrinnenexperiment (s. Kap. III.3.2.2.2) betrug mit $24,1\text{ }\mu\text{g/L}$ Bisphenol A sogar nur etwa ein Achtzigstel dieser LC_{50} . Eine direkte letale Wirkung von Bisphenol A auf *G. fossarum* im Fließbrinnenexperiment wird daher ausgeschlossen.

III.3.2.2 Fließbrinnenexperiment mit *G. fossarum*

III.3.2.2.1 Ergebnisse der physikalisch-chemischen Variablen im Wasser der Fließbrinnen

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wird nur auf die Ergebnisse derjenigen physikalisch-chemischen Variablen im Wasser der Fließbrinnen näher eingegangen, die für das Überleben und die Entwicklung der Gammariden relevant gewesen sein könnten. Weitere Details können dem Abschlussbericht des Xehogamm-Projekts (Jungmann et al., 2004a) und dem Anhang (CD-ROM) entnommen werden.

Tab. 25 liefert eine Übersicht über die Ergebnisse bezüglich der physikalischen und chemischen Variablen. Von den 12 insgesamt bestimmten Variablen gab es bei vier Variablen statistisch signifikante Unterschiede zwischen den Fließbrinnen, dazu gehören die Temperatur, der pH-Wert, die Silikat-Si-Konzentration und die Gesamthärte (Jungmann et al., 2004a). Aufgrund der geringen Streuung der Werte wurden bereits geringe Unterschiede als statistisch signifikant detektiert. Mit Ausnahme der Temperaturunterschiede waren diese geringen Unterschiede wahrscheinlich für die Gammaridenentwicklung nicht relevant (Jungmann et al., 2004a). Der zeitliche Verlauf der Wassertemperatur in den Fließbrinnen ist in Abb. 44 dargestellt.

Tab. 25: Physikalisch-chemische Variablen im Wasser der Fließbrinnen. Dargestellt sind jeweils der Median sowie in Klammern Minimum und Maximum.

Variable	Fließrinne				
	K-15	K-17	5	50	500
O ₂ [mg/L]	11,0 (10,1-11,6)	10,3 (9,7 – 11,4)	11,1 (10,1-11,6)	10,9 (10,2-11,6)	11,0 (9,7-11,8)
Temperatur [°C]	14,7 (14,4-15,1)	17,0 (16,0-17,2)	14,3 (14,2-14,7)	15,2 (15,0-17,3)	14,3 (14,0-16,2)
pH	8,5 (7,8-8,8)	8,4 (7,7-9,0)	8,5 (7,6-9,4)	8,6 (8,2-10,0)	8,3 (7,8-8,7)
Leitfähigkeit [µS/cm]	499 (445-563)	493 (447-514)	487 (440-549)	493 (442-530)	478 (438-514)
Nitrat-N [mg/L]	2,7 (0,5-3,7)	3,2 (0,5-3,8)	2,6 (0,3-3,6)	2,9 (1,0-3,7)	2,6 (1,0-3,6)
Nitrit-N [mg/L]	0,006 (n.n.-0,013)	0,012 (n.n.-0,021)	0,002 (n.n.-0,290)	0,011 (n.n.-0,015)	0,011 (n.n.-0,034)
Ammonium-N [mg/L]	0,04 (n.n.-0,16)	0,04 (n.n.-0,5)	0,02 (n.n.-0,13)	0,01 (n.n.-0,07)	0,02 (n.n.-0,03)
o-Phosphat-P [mg/L]	n.n. (n.n.-0,12)	n.n. (n.n.-0,12)	n.n. (n.n.-0,06)	n.n. (n.n.-0,06)	n.n. (n.n.-0,09)
Silikat-Si [mg/L]	0,66 (0,02-1,87)	1,58 (0,89-2,66)	0,61 (0,06-1,75)	0,76 (0,03-2,00)	1,10 (0,17-1,78)
Chlorid [mg/L]	27 (15-30)	27 (18-33)	25 (13-29)	26 (19-30)	24 (18-29)
Gesamthärte [°dH]	10,4 (9,1-11,9)	11,0 (9,8-12,2)	10,4 (9,2-11,8)	10,6 (9,1-12,2)	10,0 (8,7-11,6)
Carbonathärte [°dH]	7 (2-10)	6 (2-10)	7 (2-10)	7 (2-10)	6 (2-10)

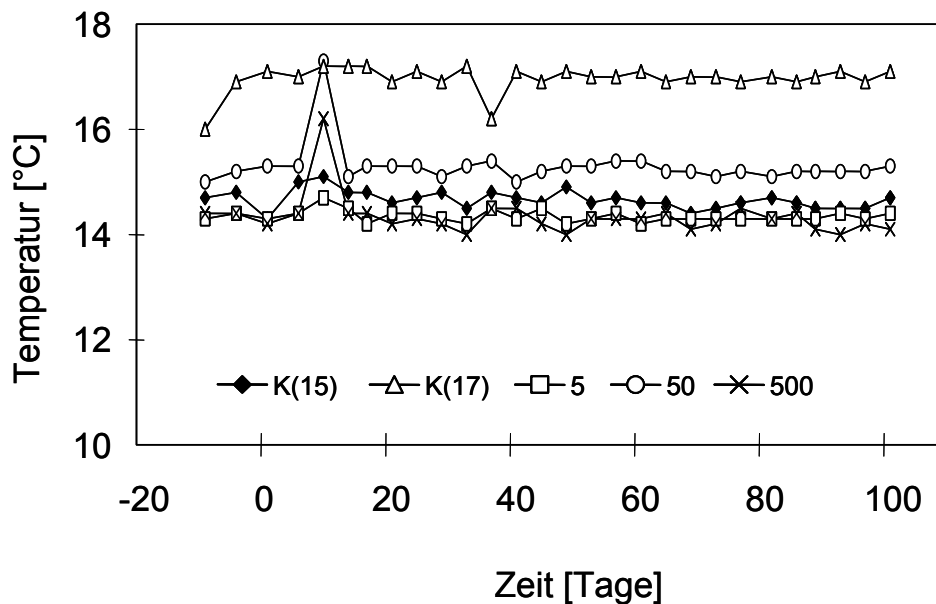


Abb. 44: Zeitlicher Verlauf der Temperatur im Wasser der Fließbrinnen. Aus Jungmann et al. (2004a).

Die höhere Temperatur in den Fließbrinnen 50 und 500 zum Zeitpunkt t_{10} erklärt sich durch einen Defekt der Kühlanlage zu diesem Zeitpunkt. Innerhalb von ungefähr 10 Stunden stieg die Temperatur in allen Fließbrinnen auf 19 °C an. Danach konnte die Temperatur wieder auf den vorgegebenen Wert von 15 °C bzw. 17 °C reguliert werden. Da bedingt durch die technische Konstruktion der Kühlanlage die Abkühlung in den Fließbrinnen 50 und 500 etwa 1 Stunde länger dauerte als in den anderen Fließbrinnen, wurde die Temperaturerhöhung noch in diesen beiden Fließbrinnen bei der regulären Temperaturmessung erfasst. Die kurzzeitige Temperaturerhöhung in allen Fließbrinnen hat auf die Gammariden vermutlich keinen letalen Effekt gehabt, da das Temperaturoptimum von *G. fossarum* 4 °C bis 19 °C beträgt (Pöckl & Humpesch, 1990). Der maximale Unterschied zwischen den Fließbrinnen 5 und 50 betrug 0,9 °C. Mögliche Auswirkungen dieses Unterschieds werden in Kap. III.3.2.2.3.2.3 diskutiert. Die Temperatur in den Fließbrinnen K-15 und K-17 zeigte signifikante Unterschiede, die vom Ansatz her auch geplant waren, um Effekte einer erhöhten Wassertemperatur auf die Gammaridenentwicklung zu untersuchen (s. Kap. III.1 und III.3.3).

Der Verlauf der Nitrit-N Konzentration im Wasser der Fließbrinnen 50, 500, K-15 und K-17 war über den gesamten Versuchszeitraum ähnlich (Abb. 45). Der Verlauf in Fließbrinne 5 war zu Beginn des Experiments für den Zeitraum t_9 bis t_{12} deutlich anders. Die Konzentration stieg auf 0,29 mg/L an und ähnelte erst ab dem Zeitpunkt t_{18} mit 0,003 mg/L dem Verlauf in den anderen Fließbrinnen.

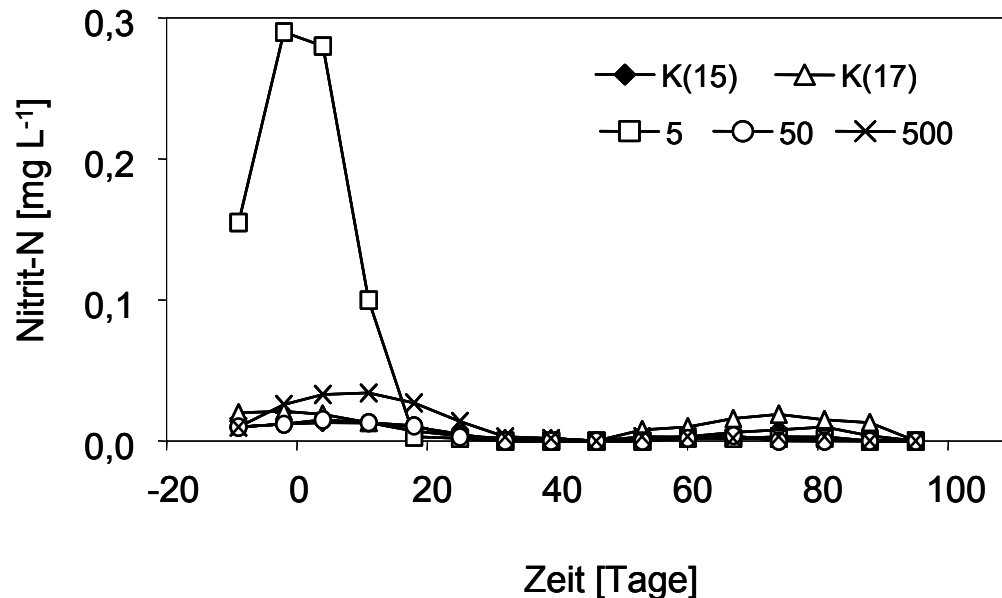


Abb. 45: Zeitlicher Verlauf der Nitrit-N-Konzentration im Wasser der Fließbrinnen. Aus Jungmann et al. (2004a).

Ob eine Störung der Nitrifikation die Ursache für die im Vergleich zu den anderen Fließbrinnen hohen Nitritkonzentrationen zu Beginn des Experiments in der Fließbrinne 5 war, kann anhand der vorliegenden Untersuchung nicht beantwortet werden. Im Vergleich zu den Freilanduntersuchungen (Kap. II.3.1), in denen die maximale Nitrit-N Konzentration bei 0,15 mg/L lag, war der Maximalwert in der Fließbrinne 5 mit 0,29 mg/L fast doppelt so hoch. Ob Effekte der höheren Nitrit-N Konzentration in der Fließbrinne 5 auf die erfassten ökotoxikologischen Endpunkte bei *G. fossarum* möglich waren, wird in den entsprechenden Kapiteln diskutiert.

III.3.2.2.2 Analyse von Bisphenol A

Anhand der Analyseergebnisse wurde die DT_{50} („dissipation time“, Halbwertszeit des Verschwindens der Chemikalie aus der Wasserphase) für Bisphenol A im Fließbrinnenexperiment bestimmt (Jungmann et al., 2004a; Licht et al., im Druck). Die berechneten DT_{50} -Werte lagen zwischen 0,5 und 1,5 Tagen und waren somit in guter Übereinstimmung mit Literaturangaben (Staples et al., 1998; Ike et al., 2000; Klečka et al., 2001). Dies gilt ebenfalls für die beobach-

tete lag-Phase von 7 Tagen, nach der die Bisphenol A-Konzentration schnell abnahm (Ike et al., 2000; Klečka et al., 2001).

Über die mittlere DT_{50} von 0,8 Tagen wurden mit Hilfe des geometrischen Mittels der Konzentrationen an t_0 und t_7 folgende Effektiv-Konzentrationen berechnet: 0,24; 2,4 und 24,1 $\mu\text{g/L}$ Bisphenol A (O. Licht, pers. Mitteilung) (Tab. 26).

Tab. 26: Vergleich der Nominal- und Effektivkonzentrationen von Bisphenol A im Fließbrinnenexperiment.

Bisphenol A Konzentration [$\mu\text{g/L}$]	
nominal	effektiv
5	0,24
50	2,4
500	24,1

Wichtig für die Bewertung ist, dass mögliche Effekte bei den Gammariden durch die wöchentliche, wegen der kurzen DT_{50} vermutlich nur kurzzeitige hohe Konzentration bei Nachdosierung der Chemikalie hervorgerufen werden könnten. Wie lange eine bestimmte Konzentration von Bisphenol A auf Gammariden einwirken muss, um bestimmte Effekte hervorzurufen, ist unbekannt. Wegen der pulsformigen Applikation von Bisphenol A im Fließbrinnenexperiment kann nicht entschieden werden, ob EC_x -Werte eher basierend auf den Nominalkonzentrationen oder basierend auf den Effektivkonzentrationen berechnet werden sollten. Deshalb wurden im Weiteren EC_x -Werte basierend auf beiden Konzentrationsangaben angegeben. Weitere Ergebnisse und eine ausführlichere Diskussion zur Analytik von Bisphenol A im Fließbrinnenexperiment sind in Jungmann et al. (2004a) zu finden.

III.3.2.2.3 Untersuchungen in MTTs (*Multi Tube Traps*)

III.3.2.2.3.1 Überleben der adulten Gammariden (P-Generation)

In jedes MTT wurden 15 Präkopula-Paare von *G. fossarum* eingesetzt. Die Abb. 46 zeigt die Überlebenskurven der jeweils 30 Adulten in den MTTs der Fließrinnen mit Bisphenol A sowie der Kontrolle (K-15). Im MTT der Kontrolle mit einer eingestellten Wassertemperatur von 15 °C (K-15) überlebten bis zum Versuchsende 10 Gammariden (33 %). In Fließrinne 5 überlebten 12 Gammariden (40 %), in Fließrinne 50 6 Gammariden (20 %) und in Fließrinne 500 9 Gammariden (30 %). In einem früheren Experiment in diesen Fließrinnen waren in der Kontrolle (15°C) im MTT ähnlich viele Überlebende (27 % nach 101 Tagen) vorhanden (Jungmann et al., 2001a).

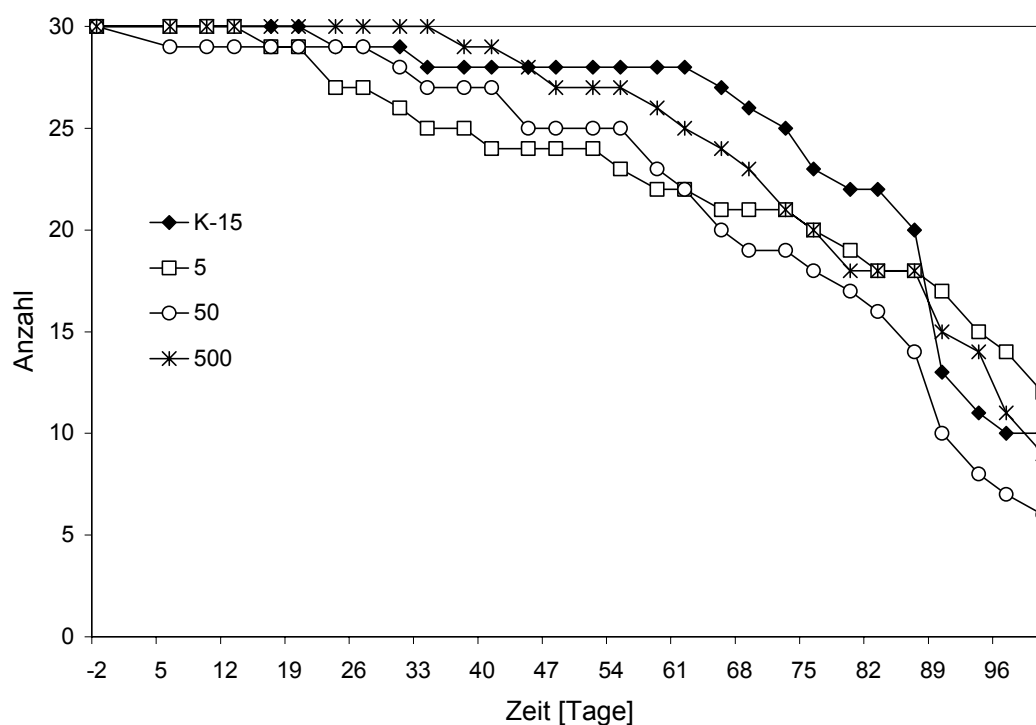


Abb. 46: Überlebenskurven der adulten *G. fossarum* (P-Generation) in den MTTs der Fließrinnen.

Die Überlebenszeiten der adulten Gammariden in den MTTs im Gesamtzeitraum des Experiments waren nicht signifikant verschieden (LogRank-Test, $p > 0,05$). Der Verlauf der Überlebenskurve von K-15 zeigt einen Anstieg der Mortalität zwischen t_{87} und t_{90} . In diesem Zeitraum starben in diesem MTT 7 Tiere. Ab t_{90} war jedoch die Mortalität in K-15 und den anderen Fließrinnen ähnlich.

Eine Konzentrations-Wirkungs-Beziehung für diesen Endpunkt lag nicht vor.

III.3.2.2.3.2 Reproduktion

III.3.2.2.3.2.1 Präkopula

Das Vorkommen von Präkopula-Paaren im Verlauf des Experiments zeigt Abb. 47. Berechnet wurde der Anteil der Präkopulae prozentual zur Anzahl aller möglichen Präkopulae in einem MTT zum jeweiligen Zeitpunkt, um den Ausfall von Partnern aufgrund der Mortalität zu berücksichtigen. Alle zu Beginn des Experiments in die MTTs eingesetzten Gammariden befanden sich in Präkopula. Bereits bei der nächsten Präkopulaphase traten innerhalb der jeweiligen Fließrinne Unterschiede zwischen den Paaren, in denen beide Partner noch vorhanden waren, auf. Manche Paare befanden sich früher wieder in Präkopula, manche später. Außerdem können individuelle Unterschiede in der Präkopuladauer zu unterschiedlich

hohen Häufigkeiten von Präkopula-Paaren geführt haben. Unterschiedliche Präkopuladauer bei Paaren bei gleicher Wassertemperatur wurde von Teichmann (1982) beschrieben.

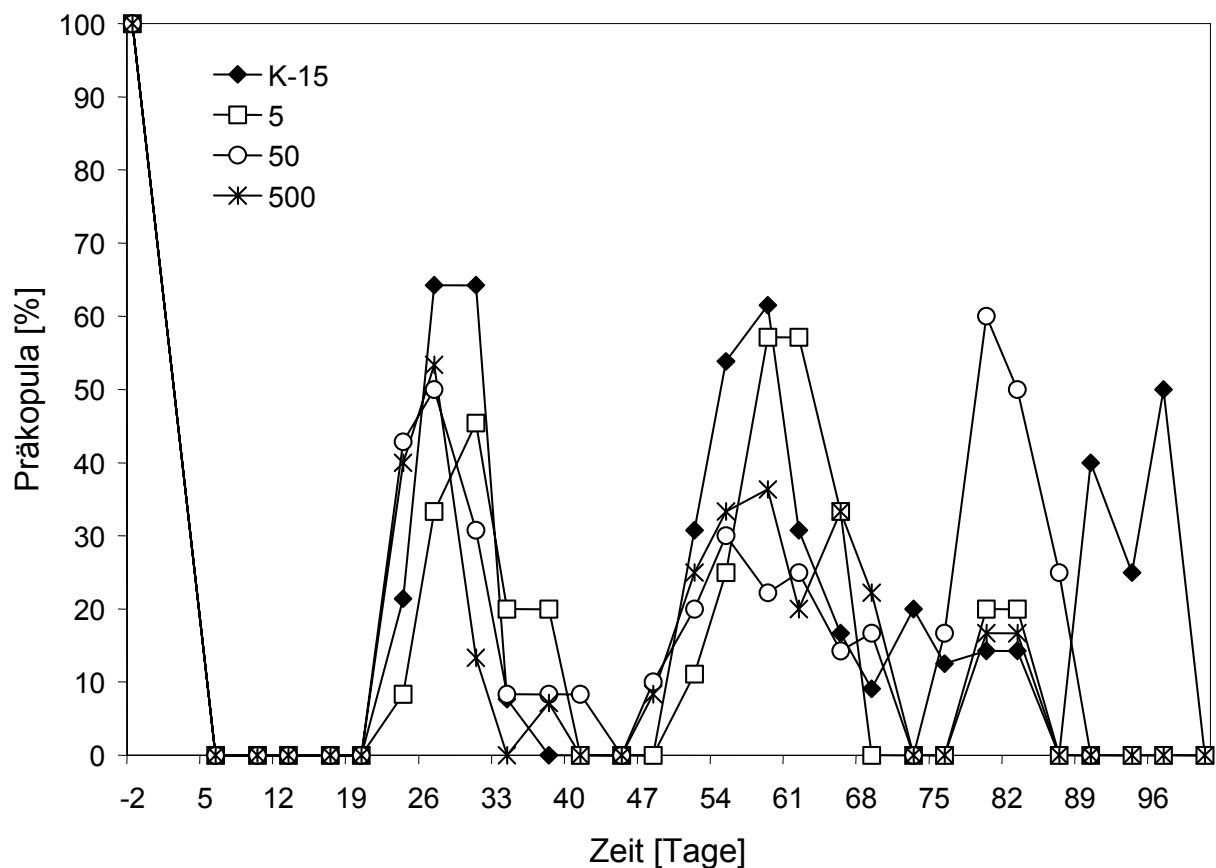


Abb. 47: Anteil der Gammaridenpaare in Präkopula pro MTT in den Fließrinnen.

Im Verlauf des Experiments standen immer weniger Gammaridenpaare für eine mögliche Präkopula zur Verfügung. Beispielsweise befanden sich an t_{97} im MTT von K-15 2 von 4 möglichen Paaren in Präkopula (50 %), in Fließrinne 5 keines von 3 möglichen Paaren und in Fließrinne 500 keines von 2 möglichen Paaren. Diese Unterschiede waren nicht signifikant (Chi²-Test mit Yates-Korrektur, $p > 0,05$). Aus diesem Grund ist auch der in Abb. 47 zu erkennende Unterschied zwischen K-15 (Vorkommen von Präkopula) und den Fließrinnen mit Bisphenol A (keine Präkopula) in den letzten Tagen des Experiments vermutlich ohne Bedeutung. Die Dauer der einzelnen Präkopulae konnte nicht bestimmt werden, weil das Beobachtungsintervall von 3 bzw. 4 Tagen zu groß war. Watts et al. (2001b) untersuchten den Einfluss von Bisphenol A im Konzentrationsbereich zwischen 14,6 ng/L und 8,4 mg/L auf das Präkopulaverhalten von *G. pulex*. Ein Effekt von Bisphenol A auf das Präkopulaverhalten der Gammariden nach 24 h Exposition trat erst ab der zweithöchsten Konzentration von 0,83 mg/L auf, also ab einer höheren Konzentration als sowohl nominal (500 µg/L) als auch effektiv (24,1 µg/L) im Fließrinnenexperiment maximal vorlag.

III.3.2.2.3.2.2 Brutanzahl

Sowohl in K-15 als auch in den Fließbrinnen mit Bisphenol A wurden während des Experiments 4 aufeinanderfolgende Bruten geboren. Im Zeitraum der 4. Brut befand sich bei Versuchsende noch ein Weibchen im brütenden Zustand in Fließrinne 500. Bis auf diese Ausnahme war die 4. Brut bei allen anderen Weibchen bereits beendet. Dieses Weibchen wies 6 Juvenile im Marsupium auf. Da nicht bekannt ist, ob diese Juvenilen bei einer Verlängerung des Experiments auch tatsächlich lebendig aus dem Marsupium entlassen worden wären, wurde dieses Weibchen bei der folgenden Darstellung von Brutentwicklungszeit, Anzahl der Nachkommen, Brutgröße und Anteil reproduzierender Weibchen bei der 4. Brut als nicht reproduzierend behandelt. Bezieht man dieses Weibchen und seine 6 Juvenilen im Marsupium als 6 Nachkommen mit ein, wurden jedoch ähnliche Tendenzen ermittelt. Die Ergebnisse der 2. Rechenvariante werden aus Gründen der Übersichtlichkeit der vorliegenden Arbeit nicht dargestellt.

III.3.2.2.3.2.3 Brutentwicklungszeit

Nach Pöckl (1990, 1993a) ist die Zeitspanne von der Befruchtung bis zum Schlüpftermin die Embryonalentwicklungszeit. Danach bleiben die Juvenilen noch einen oder mehrere Tage im Marsupium des Weibchens, die sogenannte „posthatch time“. Die Brutentwicklungszeit setzt sich zusammen aus der Embryonalentwicklungszeit plus „posthatch time“ (Pöckl, 1990 und 1993a). Der Zeitpunkt der Befruchtung konnte aufgrund des Beobachtungsintervalls von 3 bzw. 4 Tagen nicht genau bestimmt werden. Daher wurde die Brutentwicklungszeit für die vorliegende Untersuchung definiert als die Dauer vom ersten Auftreten von Juvenilen einer Brut bis zum Auftreten von Juvenilen in der nächsten Brut pro reproduzierendem Weibchen.

Die 1. Brut war zu Beginn des Experiments bereits im Marsupium der Weibchen angelegt. Die Brutentwicklungszeit konnte daher erst ab der 2. Brut erfasst werden (Abb. 48). In der 2. Brut lag der Median der Brutentwicklungszeit zwischen 18 Tagen (Fließrinne 50) und 25 Tagen (Fließrinne 5). Die Brutentwicklungszeit bei Gammariden ist abhängig von der Wassertemperatur, sie nimmt bei steigender Wassertemperatur ab (Pöckl, 1990). Nach Pöckl (1990) berechnet, müsste die Brutentwicklungszeit bei 15 °C etwa 23 Tage bei *G. fossarum* betragen. Die beobachteten Brutentwicklungszeiten ähnelten somit der berechneten. Die Brutentwicklungszeit im MTT der Fließrinne 50 war signifikant kürzer im Vergleich zu der in Fließrinne 5 und 500 (Kruskal-Wallis-ANOVA mit $p < 0,05$ und anschließender Mann-Whitney U-Test mit $p < 0,0083$ wegen Bonferroni-Korrektur). Eine Konzentrations-Wirkungs-Beziehung lag nicht vor. Möglicherweise führten die geringen Unterschiede in der Wassertemperatur zu dieser unterschiedlichen Brutentwicklungszeit, da in der Fließrinne 50 die Wassertemperatur im gesamten Experiment sowie im Zeitraum der Entwicklung der 2. Brut (t_6 bis t_{34}) etwa 0,5 bis 1 °C gegenüber der in den anderen 3 Fließbrinnen erhöht war (s.

Kap. III.3.2.2.1). Mit den Medianwerten aus der 2. Brut und den Medianwerten der Wassertemperatur im Zeitraum der Brutentwicklung der 2. Brut wurde eine Korrelationsanalyse durchgeführt. Eine signifikante Korrelation lag nicht vor. Die Brutentwicklungszeit der 2. Brut bei steigender Temperatur nahm jedoch tendenziell ab. Dieser Zusammenhang ist in Abb. 49 dargestellt. Die Regressionsanalyse in EXCEL lieferte als beste Anpassung eine Exponentialfunktion.

Korrelationsanalysen zur möglichen Abhängigkeit der untersuchten Endpunkte von der Wassertemperatur wurden auch für die anderen Bruten und Endpunkte durchgeführt. Da weder Signifikanzen noch Tendenzen festgestellt wurden, werden diese Ergebnisse nicht aufgeführt.

Die Entwicklungszeit der 3. Brut betrug im Median zwischen 31,5 Tagen (Fließrinne 5) und 33,5 Tagen (Fließrinne 50 und 500). Nach Entlassen der 2. Brut aus dem Marsupium erfolgte im MTT noch eine mehrere Tage dauernde Präkopula, bis die nächste Befruchtung erfolgte. Diese Zeit ist in der vorliegenden Untersuchung in der neu definierten Brutentwicklungszeit enthalten, da der Zeitpunkt der Befruchtung aufgrund der zu großen Beobachtungsintervalle nicht bestimmt werden konnte. Hierdurch ergab sich für die 3. Brut eine größere Dauer als bei der 2. Brut, da sich bei letzterer die Adulten bereits in Präkopula, d.h. relativ kurz vor der Befruchtung für die 2. Brut, befanden. Die Entwicklungszeiten der 3. Brut waren zwischen den Fließrinnen nicht signifikant unterschiedlich (Kruskal-Wallis-ANOVA, $p > 0,05$).

In der 4. Brut betrug der Median der Brutentwicklungszeit zwischen 28 Tagen (Fließrinne 5) und 32 Tagen (K-15). In dieser Brut konnte die Brutentwicklungszeit im MTT der Fließrinne 500 nur von einem Weibchen bestimmt werden. Sie betrug 31 Tage, lag somit im Bereich der Brutentwicklungszeiten in den anderen MTTs. Signifikante Unterschiede zwischen den Fließrinnen waren nicht vorhanden (Kruskal-Wallis-ANOVA, $p > 0,05$).

Ein Einfluss von Bisphenol A auf die Brutentwicklungszeit in den MTTs wird folglich ausgeschlossen.

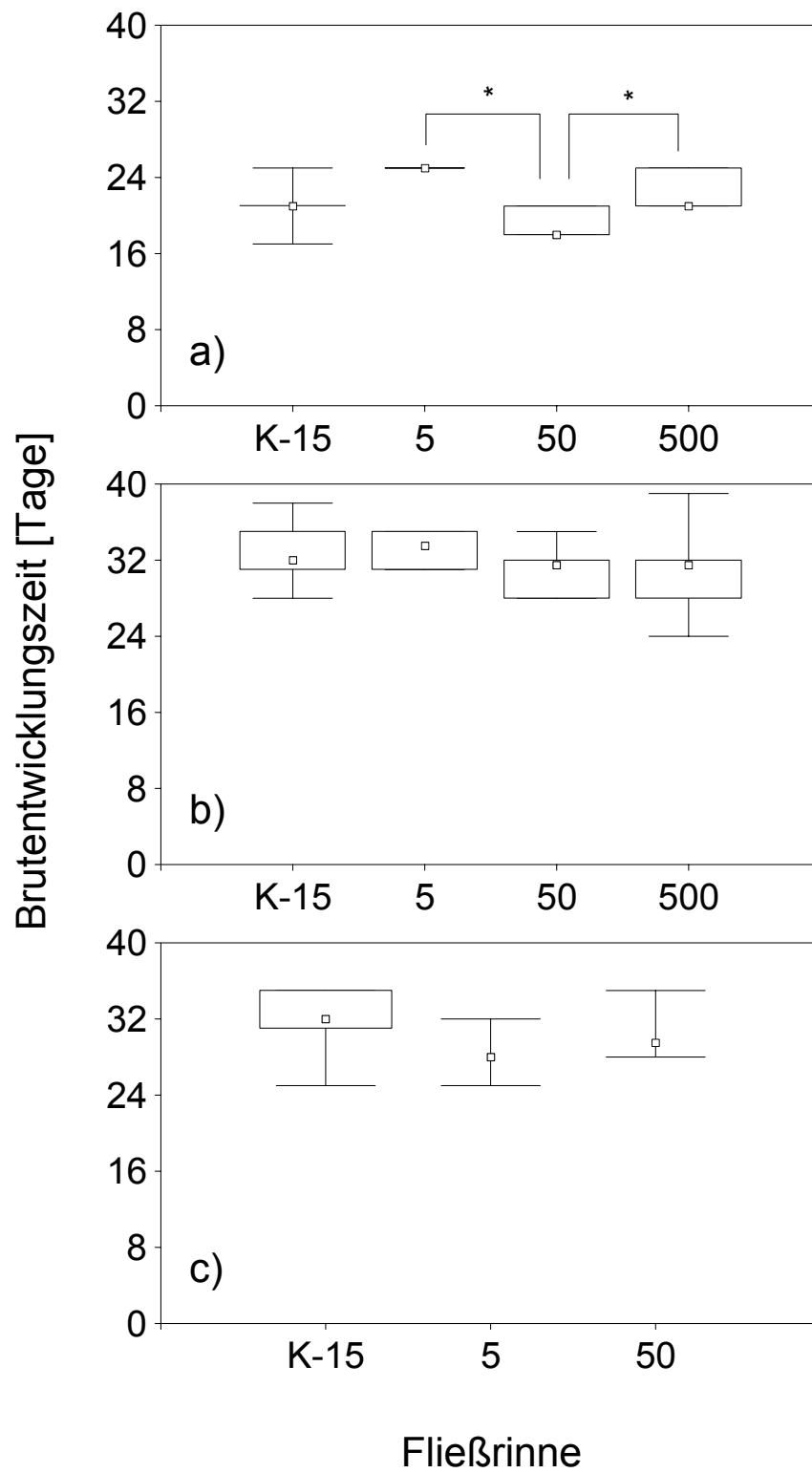


Abb. 48: Brutentwicklungszeit für die a) 2. Brut, b) 3. Brut und c) 4. Brut in den MTTs der Fließrinnen. Dargestellt sind Median, 25-75%-Perzentile, Minimum und Maximum.
*: signifikanter Unterschied mit $p < 0,0083$.

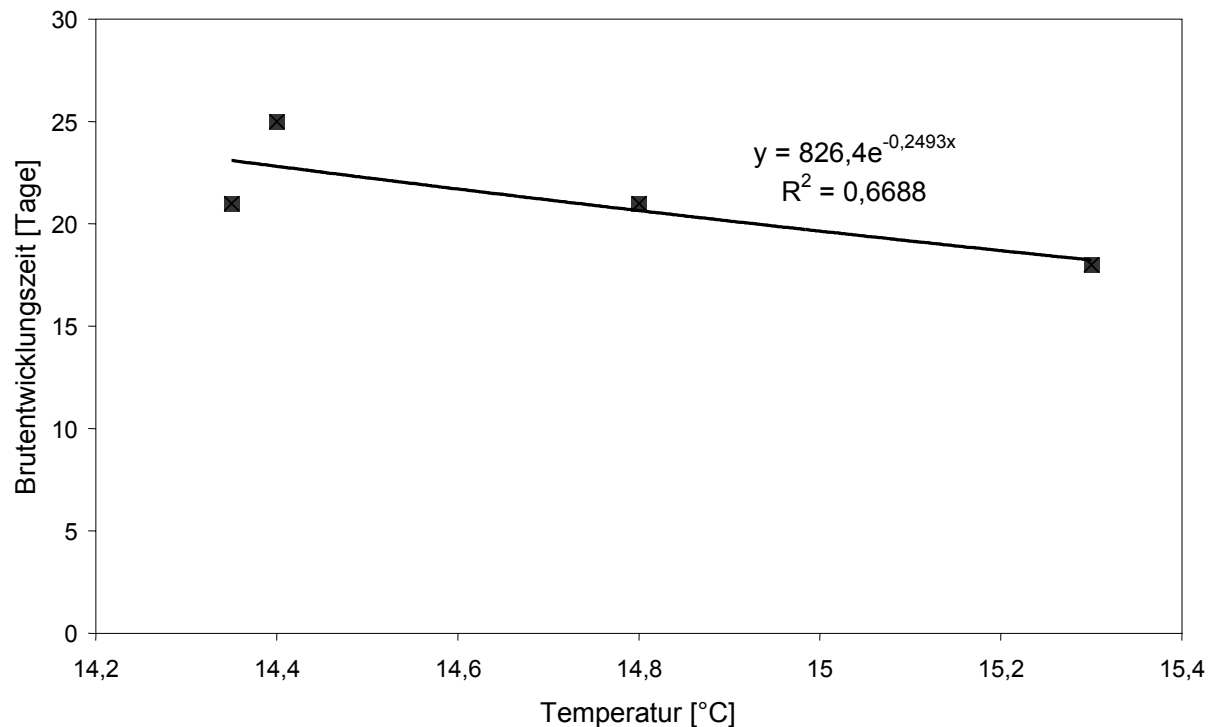


Abb. 49: Beziehung zwischen der Brutentwicklungszeit (Mediane) und der Wassertemperatur (Mediane) für die 2. Brut in den MTTs der Fließbrinnen.

III.3.2.2.3.2.4 Anzahl der Nachkommen (F1-Generation)

Die Anzahlen aller aus dem Marsupium der Weibchen entlassenen Nachkommen pro Brut in den MTTs sind in Tab. 27 aufgeführt. In der 1. Brut wurden Juvenile im Zeitraum von t_6 bis t_{10} aus dem Marsupium der Weibchen entlassen. Die Embryonalentwicklung dieser Juvenilen begann bereits im Freiland. Die 2. Brut wurde zwischen t_{24} und t_{34} in den MTTs gefunden. Hierbei handelte es sich um die Brut, die aus der Präkopula beim Einsetzen der Gammariden in die Fließbrinnen resultierte. Die 3. Brut wurde im Zeitraum zwischen t_{52} und t_{69} aus dem Marsupium der Weibchen entlassen. Juvenile der 4. Brut wurden ab t_{83} bis t_{97} in den MTTs gefunden.

Tab. 27: Anzahl der aus dem Marsupium der Weibchen entlassenen Nachkommen pro Brut in den MTTs der Fließbrinnen.

Brut	K-15	5	50	500
1	47	63	72	91
2	118	47	163	155
3	71	61	52	86
4	50	30	32	9

Bis auf eine Ausnahme (Fließrinne 5) war die Anzahl an Nachkommen in den MTTs bei allen Fließbrinnen in der 2. Brut am höchsten. Danach nahm die Anzahl der Nachkommen zum Ende des Experiments in diesen 3 Fließbrinnen ab. In allen MTTs wurde die geringste Anzahl an

Nachkommen in der 4. Brut ermittelt. Die wenigsten Juvenilen in der 4. Brut waren im MTT der Fließrinne 500 vorhanden.

Anhand der Anzahl an Nachkommen ist ein hemmender Einfluss von Bisphenol A auf die Reproduktion in der 4. Brut zu vermuten. Die Anzahl der Nachkommen pro MTT und Brut ist abhängig von der Anzahl der reproduzierenden Weibchen und der Brutgröße jedes dieser reproduzierenden Weibchen. Im Folgenden werden beide Endpunkte getrennt voneinander betrachtet.

III.3.2.2.3.2.5 Anteil reproduzierender Weibchen

Aufgrund des Ausfalls von Weibchen oder deren Partnern durch Mortalität ist es nicht sinnvoll, den Anteil der reproduzierenden Weibchen von der Anzahl der zu Beginn des Experiments eingesetzten 15 Weibchen pro MTT zu berechnen. Stattdessen wurde die Anzahl der theoretisch zur Reproduktion fähigen Weibchen bestimmt. Theoretisch reproduktionsfähige Weibchen mussten im Zeitraum der betreffenden Brut noch leben, ihre Partner mussten im Zeitraum der entsprechenden vorangegangenen Präkopulaphase noch leben, und die Weibchen durften keine Acanthocephaleninfektion aufweisen. Nur ein Weibchen im Fließrinnenexperiment war mit einem Acanthocephalen infiziert. Dieses Weibchen aus dem MTT in K-15 wurde in Präkopula beobachtet, konnte jedoch wegen der reduzierten Oostegitenbeborstung kein funktionsfähiges Marsupium bilden und produzierte daher keinen Nachwuchs. Bei dem Acanthocephalen handelte es sich um *Polymorphus minutus* (pers. Mitteilung, B. Sures). Die Anzahl der reproduzierenden Weibchen pro Brut entspricht der Anzahl von Weibchen, die lebende Juvenile aus dem Marsupium entließen. Die jeweiligen Anzahlen sind in Tab. 28 aufgeführt. Von diesen ausgehend wurde der prozentuale Anteil an reproduzierenden Weibchen bestimmt (Tab. 29).

In der 1. Brut sorgten 53 % (Fließrinne 5) bis 80 % (Fließrinne 500) der reproduzierfähigen Weibchen für Nachwuchs. Diese Brut war bereits im Freiland im Marsupium der Weibchen angelegt worden. Demnach waren nicht alle Weibchen zu Beginn des Experiments brütend, was auch den Ergebnissen der Freilanduntersuchungen in Kap. II.3.3.4.2 entspricht.

Tab. 28: Anzahl an reproduzierenden und theoretisch zur Reproduktion fähigen Weibchen in den MTTs der Fließrinnen.

Brut	Weibchen	K-15	5	50	500
1	Reproduzierend	8	8	11	12
	Theoretisch reproduzierfähig	14	15	14	15
2	Reproduzierend	14	6	14	15
	Theoretisch reproduzierfähig	14	11	14	15
3	Reproduzierend	12	10	10	11
	Theoretisch reproduzierfähig	12	10	10	14
4	Reproduzierend	7	5	4	2
	Theoretisch reproduzierfähig	7	5	5	5

Tab. 29: Prozentualer Anteil der reproduzierenden Weibchen an der Anzahl aller theoretisch reproduzierfähigen Weibchen pro Brut in den MTTs der Fließrinnen. *: signifikanter Unterschied mit $p < 0,05$.

Brut	K-15	5	50	500
1	57	53	79	80
2	100	55*	100	100
3	100	100	100	79
4	100	100	80	40

Normalerweise produzierte in den MTTs ab der 2. Brut jedes Weibchen, das theoretisch zur Reproduktion fähig war, auch tatsächlich Nachwuchs. Davon abweichend, produzierten in Fließrinne 5 in der 2. Brut nur 55 % der reproduzierfähigen Weibchen Nachwuchs. Der Unterschied zu K-15 war signifikant (Chi²-Test mit Yates-Korrektur, $p < 0,05$). Diese Reduktion ist vermutlich auf die hohe Konzentration an Nitrit am Anfang des Experiments zurückzuführen. In der 3. Brut war der Anteil der reproduzierenden Weibchen im MTT der Fließrinne 500 erniedrigt, in der 4. Brut in Fließrinne 50 und 500. Mit den Daten zur 4. Brut wurde sowohl mit den Nominalkonzentrationen als auch den Effektivkonzentrationen (s. Kap. III.3.2.2.2) eine Probitanalyse durchgeführt. Da keine 3 Werte zwischen 0 und 100 % für die Probitanalyse zur Verfügung standen, wurde die „Fudging“-Option in ToxRat verwendet (s. Kap. III.3.2.1). Auf diese Weise wurde für den Endpunkt „Anteil reproduzierender Weibchen“ in der 4. Brut eine EC₅₀ von 294 µg/L (nominal) bzw. 14 µg/L (effektiv) und eine EC₁₀ von 22 µg/L (nominal) bzw. 1,1 µg/L (effektiv) Bisphenol A ermittelt. Aus mathematischen Gründen konnten keine Konfidenzintervalle berechnet werden. Chi² war gehalten. Die dazugehörige Konzentrations-Wirkungs-Kurve (basierend auf Effektivkonzentrationen) ist in Abb. 50 abgebildet.

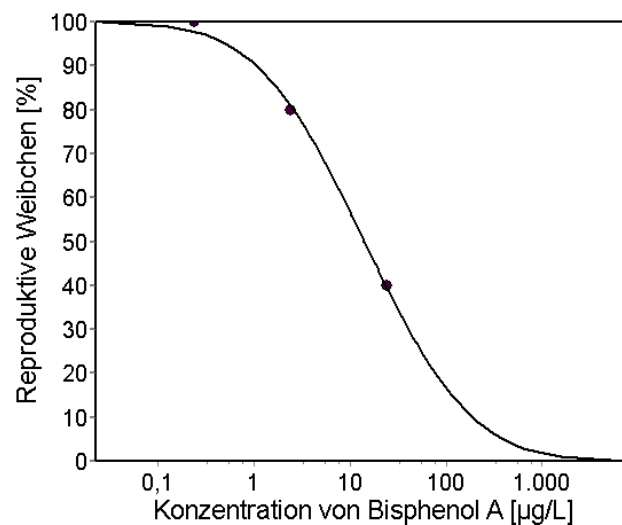


Abb. 50: Konzentrations-Wirkungs-Kurve des Effekts von Bisphenol A auf den Anteil der reproduzierenden Weibchen für die 4. Brut in den MTTs der Fließbrinnen, basierend auf Effektivkonzentrationen. p (Chi²) = 0,952; p (F) = 0,057; r^2 = 0,992.

III.3.2.2.3.2.6 Brutgröße

Die Brutgröße wurde definiert als die Anzahl der aus dem Marsupium entlassenen Jungen pro reproduzierendem Weibchen. In Abb. 51 und Abb. 52 ist die Brutgröße für die aufeinanderfolgenden Bruten dargestellt.

In der 1. Brut, die bereits im Freiland angelegt worden war, betrug die Anzahl der Nachkommen pro Weibchen im Median zwischen 6,5 (K-15) und 7,5 (Fließrinne 500). In der 2. Brut wurden im Mittel zwischen 6,5 (Fließrinne 5) und 12 (Fließrinne 500) Juvenile pro Weibchen aus dem Marsupium entlassen. In der 3. Brut waren es zwischen 5 (Fließrinne 50) und 9 (Fließrinne 500) Juvenile pro brütendem Weibchen. In der 4. Brut wurden im Median zwischen 3 (Fließrinne 500) und 7 (K-15 und Fließrinne 5) Juvenile aus dem Marsupium entlassen.

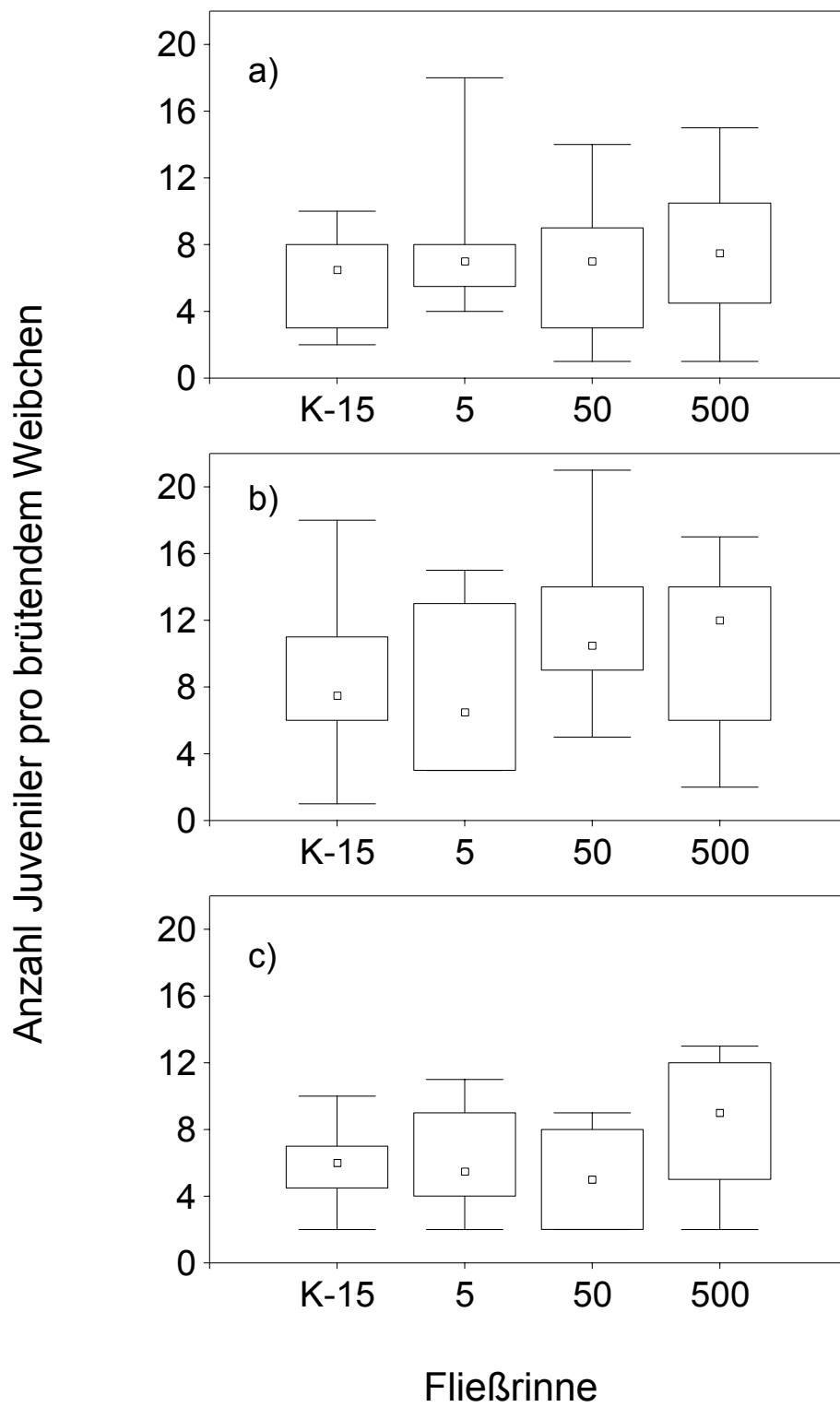


Abb. 51: Brutgröße der a) 1. Brut, b) 2. Brut und c) 3. Brut in den MTTs der Fließrinnen. Dargestellt sind Median, 25-75%-Perzentile, Minimum und Maximum.

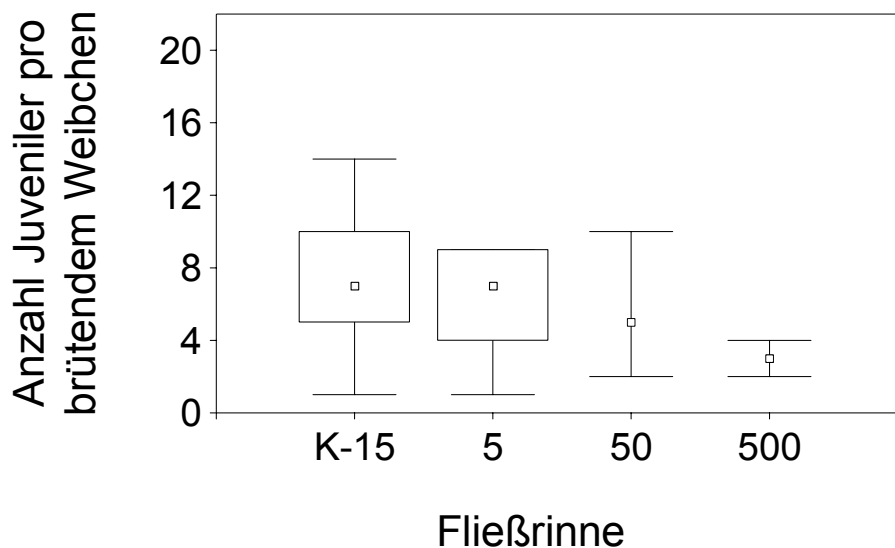


Abb. 52: Brutgröße der 4. Brut in den MTTs der Fließrinnen. Dargestellt sind Median, 25-75%-Perzentile, Minimum und Maximum.

Nur innerhalb der Fließrinne 50 und 500 gab es signifikante Unterschiede zwischen den aufeinanderfolgenden Bruten (Kruskal-Wallis-ANOVA, $p < 0,05$). Der anschließende paarweise Vergleich der Bruten in der jeweiligen Fließrinne lieferte jedoch keine signifikanten Ergebnisse (Mann-Whitney U-Test mit Bonferroni-Korrektur, $p > 0,0083$). In beiden Fließrinnen war jedoch ein ähnliches Muster zu erkennen: Die höchste Anzahl an Juvenilen pro reproduzierendem Weibchen wurde in der 2. Brut gefunden. In den nächsten Bruten sank diese Anzahl, bis sie in der 4. Brut unterhalb der in der 1. Brut war. Als Beispiel für dieses Muster sind die Brutgrößen in Fließrinne 500 in Abb. 53 dargestellt. Nach Pöckl (1990) ist die Eizahl mit der Größe des Weibchens positiv korreliert. Im Experiment sollte im Verlauf der Zeit die Körpergröße der Weibchen zunehmen. Folglich wäre in allen Fließrinnen eine Zunahme der Brutgröße anzunehmen gewesen, was nicht der Fall war. Andererseits könnten hauptsächlich die ältesten, größten Weibchen im Verlauf des Experiments gestorben sein. Dafür spricht, dass die maximale Brutgröße in allen Fließrinnen in der 2. Brut beobachtet wurde. Bei den bei Versuchsende noch lebenden Weibchen aus den MTTs wurde die Körperlänge gemessen ($n = 4 - 6$ je nach MTT). Diese Weibchen besaßen in K-15 im Median eine Körperlänge von 9,3 mm, nur ein Weibchen war über 10 mm groß. In Fließrinne 5 betrug der Median der Weibchen bei Versuchsende 8,8 mm, das größte Weibchen in diesem MTT war 10,0 mm lang. In diesen beiden MTTs könnten folglich vor allem alte Weibchen gestorben sein, so dass sich insgesamt der Median der Brutgröße in späteren Bruten nicht erhöhte. Im Gegensatz dazu lag der Median bei den Weibchen aus dem MTT in Fließrinne 500 bei 10,4 mm, ein Weibchen war 11,3 mm lang. Die reduzierte Brutgröße in der 4. Brut in Fließrinne 500 ist daher

vermutlich nicht auf eine geringe Körpergröße überlebender Weibchen zurückzuführen, sondern muss eine andere Ursache haben. Im MTT der Fließrinne 50 überlebte kein Weibchen bis zum Versuchsende. Tote Tiere wurden von ihrem Partner sofort gefressen, so dass ihre Körperlänge nicht bestimmt werden konnte.

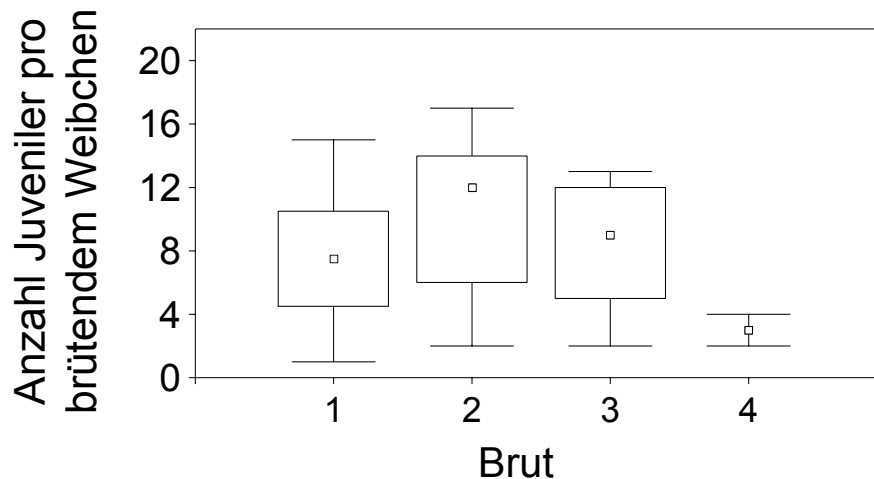


Abb. 53: Brutgrößen in den 4 aufeinanderfolgenden Bruten im MTT der Fließrinne 500. Dargestellt sind Median, 25-75%-Perzentile, Minimum und Maximum.

In keiner der aufeinanderfolgenden Bruten gab es signifikante Unterschiede zwischen den Fließbrinnen (Kruskal-Wallis-ANOVA, $p > 0,05$). Bei den ersten 3 Bruten lag keine Konzentrations-Wirkungs-Beziehung vor, jedoch war die Brutgröße in der höchsten Bisphenol A-Konzentration am größten.

In der 2. Brut war die Brutgröße pro Weibchen im MTT der Fließrinne 5 verglichen mit der in den anderen MTTs am kleinsten. Vermutlich war dies auf die hohe Nitritkonzentration in dieser Fließrinne in den ersten 2 Wochen der Exposition zurückzuführen.

In der 4. Brut, gegen Ende des Experiments, wurde eine konzentrationsabhängige Abnahme der Brutgröße festgestellt. Mit den Daten aus der 4. Brut wurde sowohl basierend auf Nominal- als auch auf Effektivkonzentrationen eine Probitanalyse durchgeführt. Die Brutgröße in K-15 wurde dabei als 100 % gesetzt. Auch hier musste die „Fudging“-Option in ToxRat verwendet werden. Auf diese Weise wurde für die Brutgröße der 4. Brut eine EC_{50} von 247 $\mu\text{g/L}$ (nominal) bzw. 12 $\mu\text{g/L}$ (effektiv) und eine EC_{10} von 11 $\mu\text{g/L}$ (nominal) bzw. 0,5 $\mu\text{g/L}$ (effektiv) Bisphenol A ermittelt. Aus mathematischen Gründen konnten keine Konfidenzintervalle berechnet werden. χ^2 war gehalten. Die dazugehörige Konzentrations-Wirkungs-Kurve (basierend auf Effektivkonzentrationen) ist in Abb. 54 abgebildet.

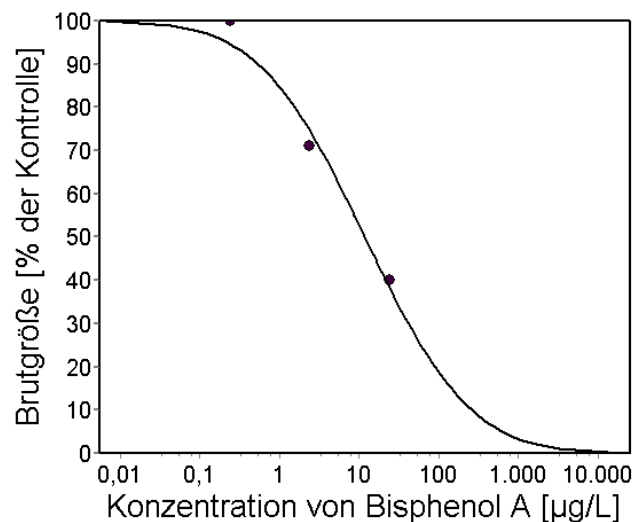


Abb. 54: Konzentrations-Wirkungs-Kurve des Effekts von Bisphenol A auf die Brutgröße der 4. Brut in den MTTs der Fließbrinnen, basierend auf Effektivkonzentrationen. p (Chi²) = 0,869; p (F) = 0,145; r^2 = 0,949.

Pöckl (1990) berechnete den sogenannten Fekunditätsindex F_i (Quotient aus Eizahl zu Körperlänge des Weibchens), um die Reproduktion bei Weibchen mit unterschiedlicher Körperlänge vergleichen zu können. In Anlehnung an diese Berechnungen wurde für die 4. Brut der Quotient aus der Anzahl der Juvenilen und der Körperlänge von den reproduzierenden Weibchen in der 4. Brut, die bis Versuchsende überlebten, gebildet und als F_i (juv) bezeichnet. Die F_i (juv)-Werte dieser einzelnen Weibchen sind in Tab. 30 aufgelistet.

Tab. 30: Fekunditätsindex F_i (juv) für die 4. Brut in den MTTs in den Fließbrinnen. Keine Werte für Fließrinne 50 vorhanden.

K-15	5	500
0,72	0,78	0,28
0,88	1,15	
0,55	0,90	
1,14		

Wie man sieht, waren die Probenumfänge sehr gering. Dennoch besaß zumindest das Weibchen im MTT der Fließrinne 500 den geringsten F_i (juv). Dies könnte ein - wenngleich schwacher - Hinweis sein, dass die geringe Brutgröße der 4. Brut im MTT der Fließrinne 500 nicht durch eine geringere Körperlänge dieser Weibchen im Vergleich zu den anderen Weibchen bedingt war.

Diese Vermutung wird durch die Berechnung des Fekunditätsindex bei den Weibchen gestützt, die zu einer 5. Brut bei Verlängerung des Experiments beigetragen hätten. Bei diesen brütenden Weibchen wurde die Körperlänge bei Versuchsende sowie die Anzahl der Eier im

Marsupium erfasst und daraus der jeweilige Fekunditätsindex berechnet. Diese Werte sind in Tab. 31 aufgeführt.

Tab. 31: Körperlänge, Eizahlen und Fekunditätsindex der brütenden Weibchen bei Versuchsende in den MTTs der Fließbrinnen. Keine überlebenden Weibchen in Fließrinne 50 vorhanden gewesen.

Fließrinne	Körperlänge [mm]	Eizahl	Fekunditätsindex
K-15	8,0	8	1,00
5	8,9	9	1,01
5	7,8	6	0,77
500	9,7	3	0,31
500	11,3	1	0,09

Auch hier standen nur wenig Tiere für die Analyse zur Verfügung (insgesamt 5 Weibchen). Jedoch fällt auf, dass beide brütende Weibchen aus dem MTT in Fließrinne 500 einen wesentlich niedrigeren Fekunditätsindex aufwiesen verglichen mit den Weibchen aus den MTTs in K-15 und Fließrinne 5 (Tab. 31).

Der niedrige Fekunditätsindex in der 4. und 5. Brut in Fließrinne 500 weist daraufhin, dass Bisphenol A wahrscheinlich einen hemmenden Einfluss auf die Reproduktion in der höchsten eingesetzten Konzentration hatte.

III.3.2.2.4 Untersuchungen der F1-Generation aus den MTTs

Pro Fließrinne wurde das Überleben der jeweiligen Brut aller Weibchen eines MTTs jeweils in einem Expositionsgefäß beobachtet. Das Überleben der Nachkommen wurde aufgrund des zu großen zeitlichen Aufwands nicht gesondert pro Weibchen geprüft. Das genaue Alter der Individuen konnte nicht bestimmt werden, da die Juvenilen nicht synchron aus dem Marsupium der Weibchen entlassen wurden. Die Juvenilen wurden am Tag ihres Auftretens aus dem MTT entfernt und in ein Expositionsgefäß überführt, um möglichen Kannibalismus durch die Eltern im MTT gering zu halten.

III.3.2.2.4.1 Überleben der 1. Brut

Abb. 55 zeigt den Anteil überlebender juveniler Gammariden in der 1. Brut aus den MTTs in Abhängigkeit vom zunehmenden Alter. Die ersten Juvenilen dieser Brut wurden in allen Fließbrinnen an t_6 des Experiments beobachtet. An t_{10} waren alle Juvenilen aus dem Marsupium entlassen. Dieser Tag wurde als t_0 des Alters dieser Brut definiert und die Anzahl der zu diesem Zeitpunkt lebenden Juvenilen als 100 % gesetzt.

In K-15 waren alle Juvenilen der 1. Brut nach 79 Tagen gestorben, in Fließrinne 5 nach 2 Tagen und in Fließrinne 500 nach 86 Tagen Beobachtung. Nur in Fließrinne 50 überlebten 3 % der Juvenilen der 1. Brut bis zum Ende des Experiments mit einem ungefähren Alter von 92 Tagen. Im Gegensatz dazu überlebten beispielsweise bei Pöckl (1990) nach 90 Tagen bei 16 °C 75 % von ebenfalls gruppenweise gehaltenen Juvenilen. Ein konzentrationsabhängiger Effekt durch Bisphenol A war nicht zu erkennen.

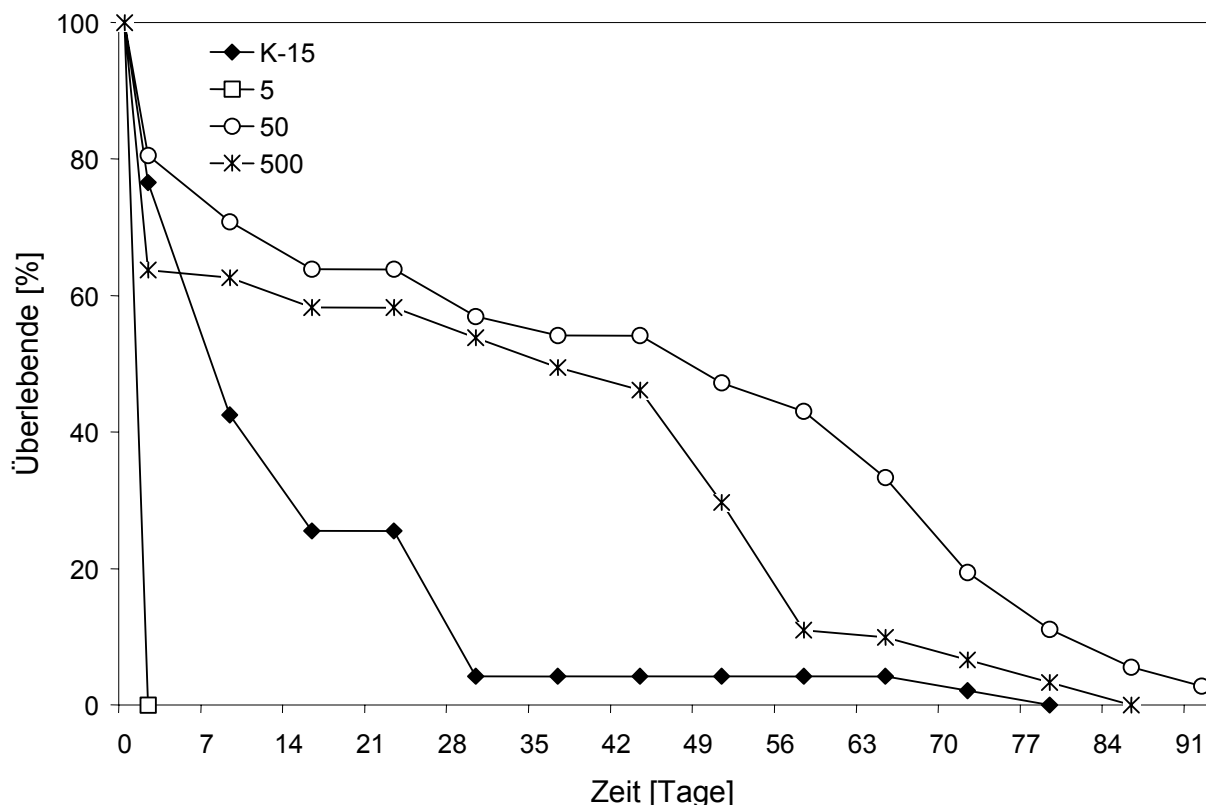


Abb. 55: Überleben der 1. Brut aus den MTTs in den Fließrinnen.

Die hohe Mortalität der Juvenilen in Fließrinne 5 stand vermutlich in Zusammenhang mit der in diesem Zeitraum hohen Konzentration an Nitrit im Wasser. Die Konzentration an Nitrit-N betrug im Zeitraum bis t_{12} des Experiments (Tag 2 in Abb. 55) bis zu 0,29 mg/L. In der Literatur fehlen konkrete Angaben zur Toxizität von Nitrit bei Gammariden. Reuter (1996) führte seine Experimente mit Juvenilen von *G. fossarum* bei einer Nitrit-N-Konzentration unterhalb von 0,1 mg/L durch, gab jedoch keine Erklärung für die Wahl dieses Grenzwerts. Toxizitätsdaten bei anderen Crustaceen erstrecken sich über einen weiten Konzentrationsbereich von Nitrit. Beispielsweise ermittelten Ali & Dumont (1995) bei Larven von *Streptocephalus proboscideus* (Anostraca) eine LC_{50} (24 h) von 0,58 mg/L Nitrit-N. Nach Meade & Watts (1995) lag die LC_{50} (96 h) bei Juvenilen von *Cherax quadricarinatus* (Decapoda) bei 25,9 mg/L Nitrit-N. Der Grund für die hohe Mortalität in den anderen Fließrinnen ist unbekannt.

III.3.2.2.4.2 Überleben der 2. Brut

Abb. 56 zeigt den Anteil überlebender juveniler Gammariden in der 2. Brut aus den MTTs in Abhängigkeit vom zunehmenden ungefähren Alter.

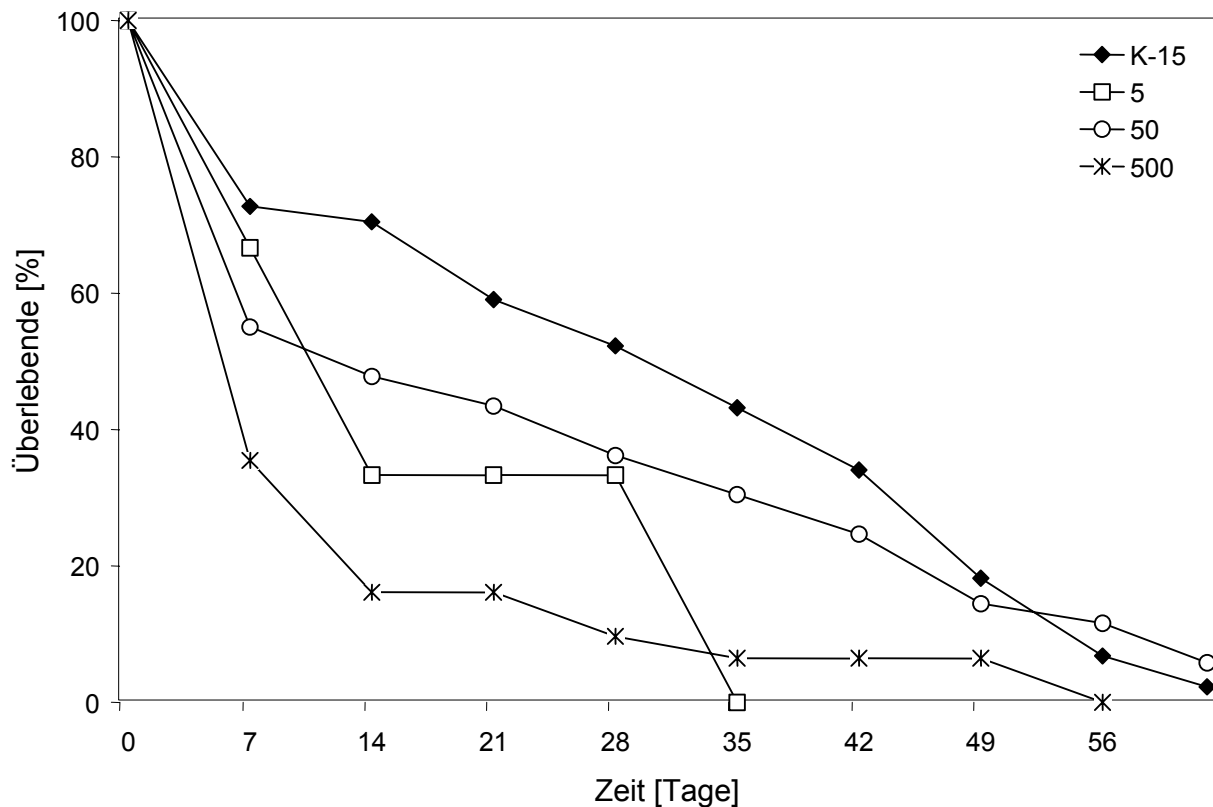


Abb. 56: Überleben der 2. Brut aus den MTTs in den Fließrinnen.

In K-15 überlebten 2 % der Juvenilen der 2. Brut bis zum Versuchsende mit einem ungefähren Alter von 62 Tagen, in Fließrinne 50 waren es 6 %. In Fließrinne 5 waren nach 35 Tagen alle Juvenilen der 2. Brut gestorben, in Fließrinne 500 nach 56 Tagen. Ein konzentrationsabhängiger Effekt von Bisphenol A auf die Überlebenskurven der 2. Brut lag nicht vor. Die Juvenilen der 2. Brut resultierten aus der Präkopula beim Einsetzen der P-Generation in die MTTs der Fließrinnen. Möglicherweise war durch den hohen Nitritgehalt im Wasser der Fließrinne 5 die Entwicklung dieser Brut gestört, so dass die Juvenilen eine reduzierte Lebensfähigkeit besaßen.

III.3.2.2.4.3 Überleben der 3. Brut

Abb. 57 zeigt den Anteil überlebender juveniler Gammariden in der 3. Brut aus den MTTs in Abhängigkeit vom zunehmenden ungefähren Alter.

Nur in Fließrinne 50 überlebten 9 % Juvenile der 3. Brut bis zum Ende des Experiments mit einem ungefähren Alter von 35 Tagen. In den anderen 3 Fließrinnen waren die Nachkommen aus der 3. Brut bereits nach 28 Tagen Beobachtung gestorben.

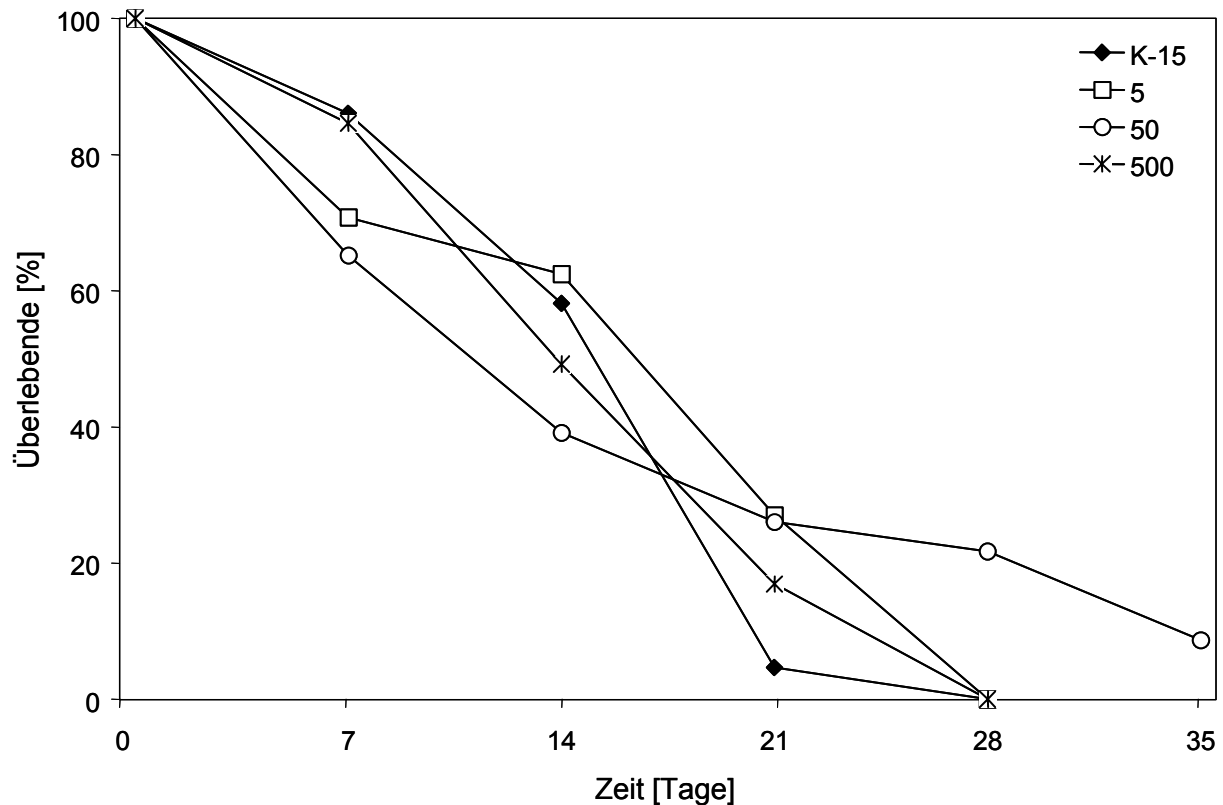


Abb. 57: Überleben der 3. Brut aus den MTTs in den Fließrinnen.

Die Fließrinne 5 zeigt eine ähnliche Überlebenskurve der 3. Brut im Vergleich zu K-15 und Fließrinne 500. Daraus lässt sich folgern, dass nach Angleichung der Nitritkonzentration im Wasser dieser Fließrinne verglichen mit den anderen Fließrinnen im weiteren Verlauf des Experiments ab t_{18} eine Erholung der P-Generation stattfand und das Überleben der Nachkommen nicht mehr durch Nitrit beeinträchtigt war.

Die Fließrinne 50 zeigte bis zum Tag 21 der Beobachtung einen ähnlichen Verlauf der Überlebenskurve wie in den anderen Fließrinnen. Erst ab diesem Zeitpunkt war die Mortalität der 3. Brut in dieser Fließrinne niedriger als in den anderen Fließrinnen. Eine Erklärung dafür ist nicht vorhanden. Möglicherweise handelte es sich um die natürliche Variabilität der Mortalität von Juvenilen.

III.3.2.2.4.4 Vergleich des Überlebens der Bruten aus den MTTs

Tendenziell wurde beim Vergleich der Bruten innerhalb der jeweiligen Fließrinne das längste Überleben bzw. der höchste Anteil an Juvenilen in der 1. Brut beobachtet, gefolgt von der 2. Brut. Die 3. Brut zeigte die kürzeste Überlebensdauer (mit Ausnahme der Fließrinne 5). Eine verkürzte Lebensdauer der Nachkommen der folgenden Brut im Vergleich zur vorherigen wurde auch von Jungmann et al. (2001a) und Schmidt (2003) für dieselben Fließrinnen beschrieben. In allen Fließrinnen schienen die Eltern dieser Bruten zunehmend gestresster zu sein und/oder die Lebensbedingungen der Juvenilen, insbesondere der jüngsten, schienen sich mit Fortdauer des Experiments zu verschlechtern. Welcher Faktor dafür verantwortlich gewesen sein könnte, ist unbekannt.

Die Fließrinne 5 stellte zu Beginn des Experiments eine Ausnahme dar, weil die Nitrit-N-Konzentration im Wasser gegenüber der in den anderen Fließrinnen stark erhöht war. Auch unter Ausschluss der Ergebnisse aus dieser Fließrinne wurde keine Konzentrationsabhängigkeit des Überlebens der Bruten aus den MTTs festgestellt. Nur in der 2. Brut war das Überleben der Juvenilen in der Fließrinne 500 schlechter als in K-15 und Fließrinne 50 (Abb. 56). Ob es sich dabei um einen Effekt von Bisphenol A oder um die natürliche Variabilität dieses Endpunkts handelte, ist schwer abzuschätzen. Da dieses Muster nur in der 2. Brut auftrat, ist eher letzteres anzunehmen. In weiterführenden Untersuchungen sollte die natürliche Variabilität der Juvenilmortalität durch Beobachtung mehrerer Replikate ohne Chemikalienzugabe erfasst werden.

III.3.2.2.5 Untersuchungen in Expositionsgefäßen für biochem./histologische Untersuchungen

III.3.2.2.5.1 Überleben der adulten Gammariden (P-Generation)

Das Überleben der pro Expositionsgefäß eingesetzten 52 adulten *G. fossarum* (26 Präkopulapaaire) ist vergleichend mit dem der Adulten aus dem jeweiligen MTT in Abb. 58 dargestellt. Bei Versuchsende (Probenahme an t_{102}) hatten im Expositionsgefäß in K-15 37 % der eingesetzten Adulten überlebt, in Fließrinne 5 2 %, in Fließrinne 50 37 % und in Fließrinne 500 17 %.

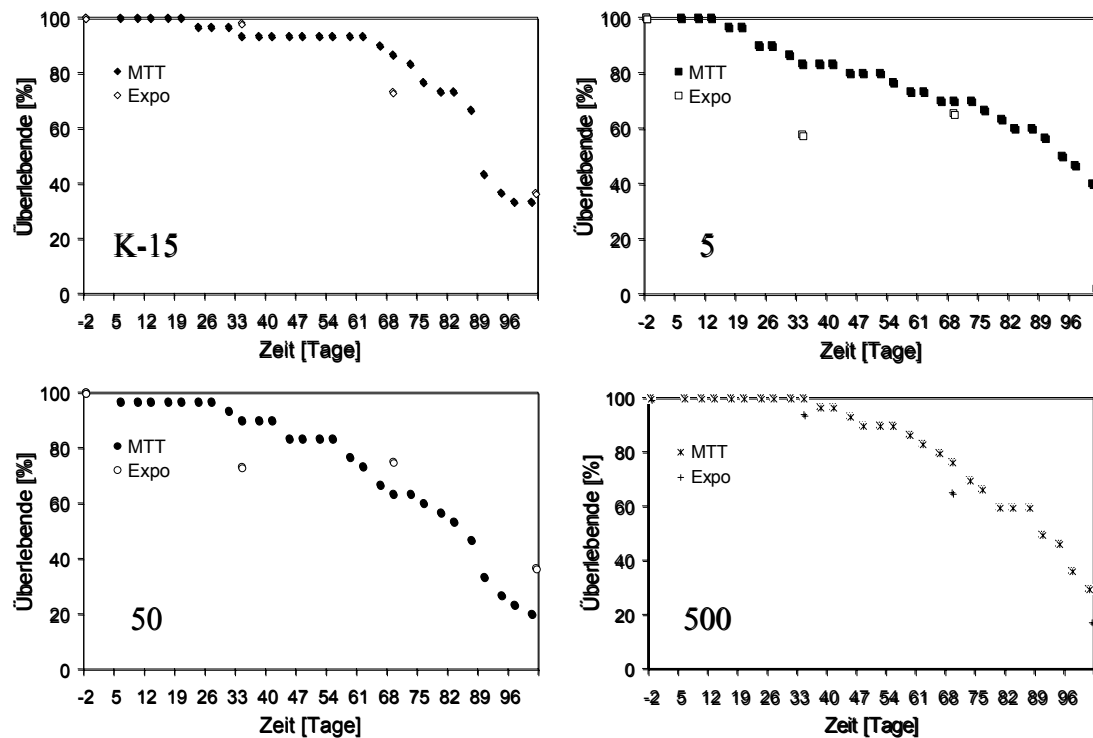


Abb. 58: Überleben der Adulten im MTT und in den Expositionsgefäßen (Expo) für biochem./histologische Untersuchungen in den Fließrinnen.

Man kann erkennen, dass der Verlauf der Überlebenskurven der MTT-Tiere das Überleben der Tiere in den Expositionsgefäßen gut widerspiegelte, da bis auf eine Ausnahme beide Verläufe sich pro Fließrinne ähnelten. Die Ausnahme stellte das Expositionsgefäß für die 3. Probenahme für biochem./histologische Untersuchungen in Fließrinne 5 dar (Abb. 58). In diesem Expositionsgefäß überlebte bis zum Versuchsende nur ein einziges adultes Tier. Bereits nach etwa 2 Wochen fiel auf, dass die als Futter angebotenen Blattscheiben kaum noch gefressen wurden. Außerdem wurden nur vereinzelt Adulte im Gefäß beobachtet. Diese Befunde sind zwar nur semiquantitativ, dennoch lässt sich aus ihnen folgern, dass bereits ab diesem Zeitpunkt weniger Adulte in diesem im Vergleich zu den anderen Expositionsgefäßen derselben Fließrinne vorhanden waren. Ein möglicher Grund könnte Kannibalismus sein. Kannibalismus bei *G. fossarum* wurde von Pöckl (1990) und in den MTTs in der vorliegenden Untersuchung beobachtet. Vermutlich waren Flucht- und Versteckmöglichkeiten im Expositionsgefäß nicht ausreichend. Bereits 1928 empfahl Sexton bei der Zucht von *G. chevreuxi*, ein Tier, das kannibalistisches Verhalten zeigt, aus dem Gefäß zu entfernen, weil es sich auf seine Artgenossen als Nahrung spezialisiert hat.

Bei Ausschluss der Fließrinne 5 aus der Betrachtung zeigt sich, dass am Ende des Experiments im Expositionsgefäß in der Fließrinne 500 signifikant weniger Adulte überlebten als in K-15 und Fließrinne 50 (Chi²-Test, $p < 0,05$).

III.3.2.2.5.2 Abundanz der juvenilen Gammariden (F1-Generation)

In allen Fließrinnen fand Reproduktion in den Expositionsgefäßen für biochem./histologische Untersuchungen statt. Die Abundanzen der Juvenilen (F1-Generation) sind in Abb. 59 wiedergegeben.

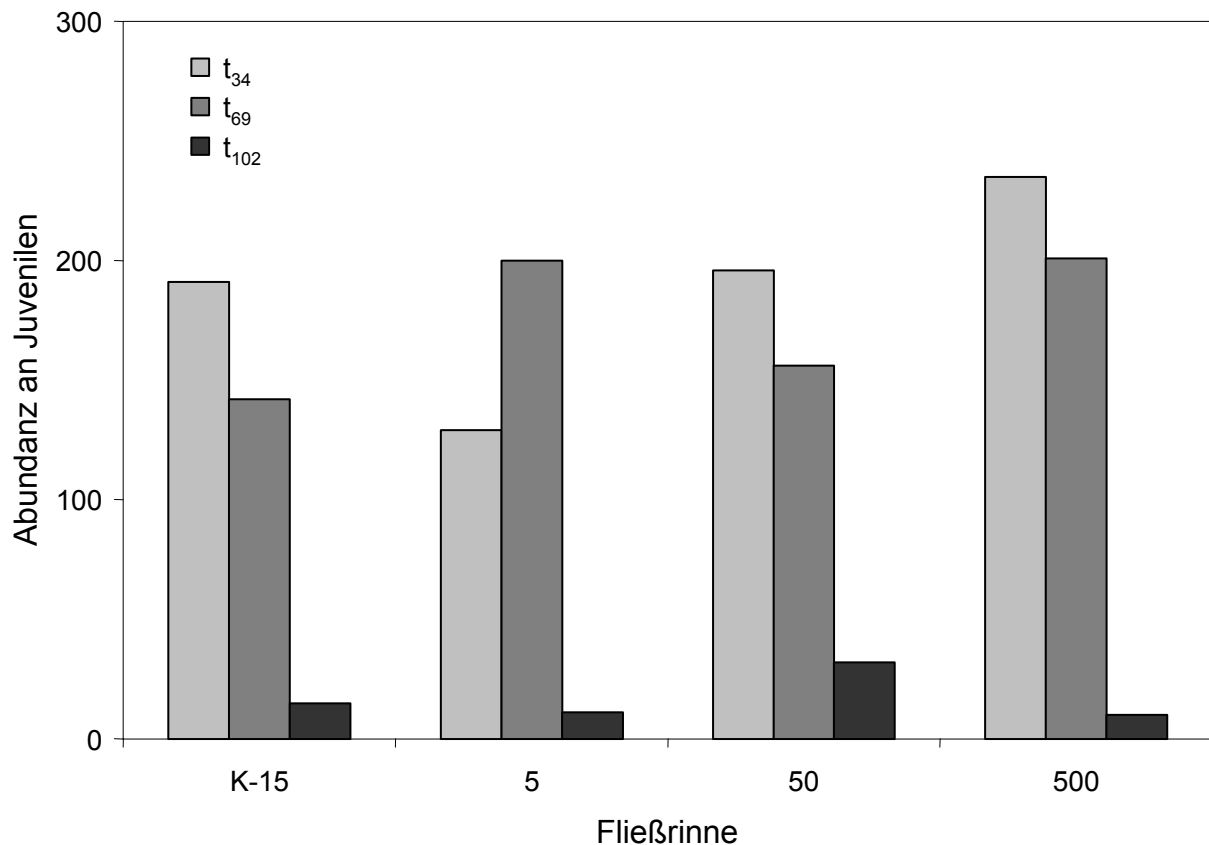


Abb. 59: Abundanz der juvenilen *G. fossarum* in den Expositionsgefäßen für biochem./histologische Untersuchungen in den Fließrinnen.

In Fließrinne 5 stieg die Abundanz der Juvenilen zwischen der ersten Probenahme an t₃₄ und der 2. Probenahme an t₆₉ und nahm dann zur 3. Probenahme an t₁₀₂ ab. Die geringere Abundanz an Juvenilen zu t₃₄ im Vergleich zu den anderen Fließrinnen ist wahrscheinlich auf die hohe Nitritkonzentration in den ersten Tagen des Experiments zurückzuführen. In den anderen Fließrinnen wurde die höchste Abundanz jeweils im Expositionsgefäß bei der Probenahme t₃₄ gefunden. Danach sanken die Abundanzen im weiteren Verlauf des Experiments. Wird die Fließrinne 5 bei einer vergleichenden Betrachtung der Abundanzen an Juvenilen ausgeschlossen, so ergibt sich für t₃₄ und t₆₉ jeweils ein Anstieg der Abundanz mit zunehmender Bisphenol A-Konzentration. Dieser Anstieg war nicht mit dem Anteil überlebender Adulte in diesen Expositionsgefäßen korreliert, könnte also vermutlich auf eine erhöhte Reproduktion schließen lassen. Im Gegensatz dazu war die Abundanz der Juvenilen in Fließrinne 500 bei t₁₀₂ geringer als in Fließrinne 50 und K-15. Gleichzeitig hatten in diesem Expositionsgefäß weniger Adulte (17 %) als in den beiden anderen überlebt (jeweils 37 %).

Für die geringe Abundanz an Juvenilen in Fließrinne 500 zu diesem Zeitpunkt war folglich vermutlich die geringe Anzahl an Adulten und nicht bzw. nicht allein ein reproduktionsbeeinträchtigender Effekt durch Bisphenol A verantwortlich.

III.3.2.2.6 Populationen in den Fließrinnen

In der Fließrinne 5 wurde am Anfang des Experiments eine erhöhte Nitritkonzentration im Wasser gemessen. Aufgrund dieses Unterschieds wäre möglicherweise die Populationsentwicklung der Gammariden in Fließrinne 5 auch ohne die Applikation von Bisphenol A abweichend von der in K-15 verlaufen. Daher erfolgt zusätzlich eine Diskussion der Ergebnisse bei Ausschluss der Ergebnisse aus Fließrinne 5.

III.3.2.2.6.1 Abundanzen

Die Abundanzen in den Fließrinnenpopulationen bei Versuchsende sind in Tab. 32 dargestellt.

Tab. 32: Abundanzen von *G. fossarum* in den Populationen der Fließrinnen bei Versuchsende.

Fließrinne	Gesamt	Juvenile	Männchen	Weibchen
K-15	52	10	18	24
5	409	203	90	116
50	136	31	59	46
500	39	2	20	17

In allen Fließrinnen fand Reproduktion statt, da Juvenile sowie adoleszente Männchen und Weibchen vorhanden waren. Unter den gesamten Männchen und Weibchen gehörten zumindest die Tiere, die bei Versuchsende eine Körperlänge von > 6 mm aufwiesen (also M- und L-Tiere), zur P-Generation. Mit diesen Tieren wurde das Überleben der P-Generation abgeschätzt (Tab. 33).

Tab. 33: Überleben der P-Generation (M- und L-Tiere) in den Gammaridenpopulationen in den Fließrinnen bei Versuchsende. Dargestellt ist die absolute Anzahl sowie der prozentuale Anteil Überlebender der Startpopulationen ($n = 200$).

K-15	5	50	500
34 (17 %)	155 (78 %)	65 (33 %)	31 (16 %)

Sowohl insgesamt als auch nur für die P-Generation betrachtet war die Abundanz in der Fließrinne 5 am höchsten, gefolgt von der in der Fließrinne 50. Die Abundanz in der Fließrinne 500 war nur etwas geringer als in K-15.

Eine Konzentrations-Wirkungs-Beziehung beim Endpunkt Abundanz lag weder bei Einschluss der Fließrinne 5 noch bei ihrem Ausschluss aus der Betrachtung vor.

III.3.2.2.6.2 Geschlechterverhältnis

In Abb. 60 ist das Verhältnis zwischen Männchen und Weibchen in den Fließrinnenpopulationen sowie in der Startpopulation (Subsample mit derselben Größenklassenverteilung wie in den Fließrinnenpopulationen zu t_2) dargestellt.

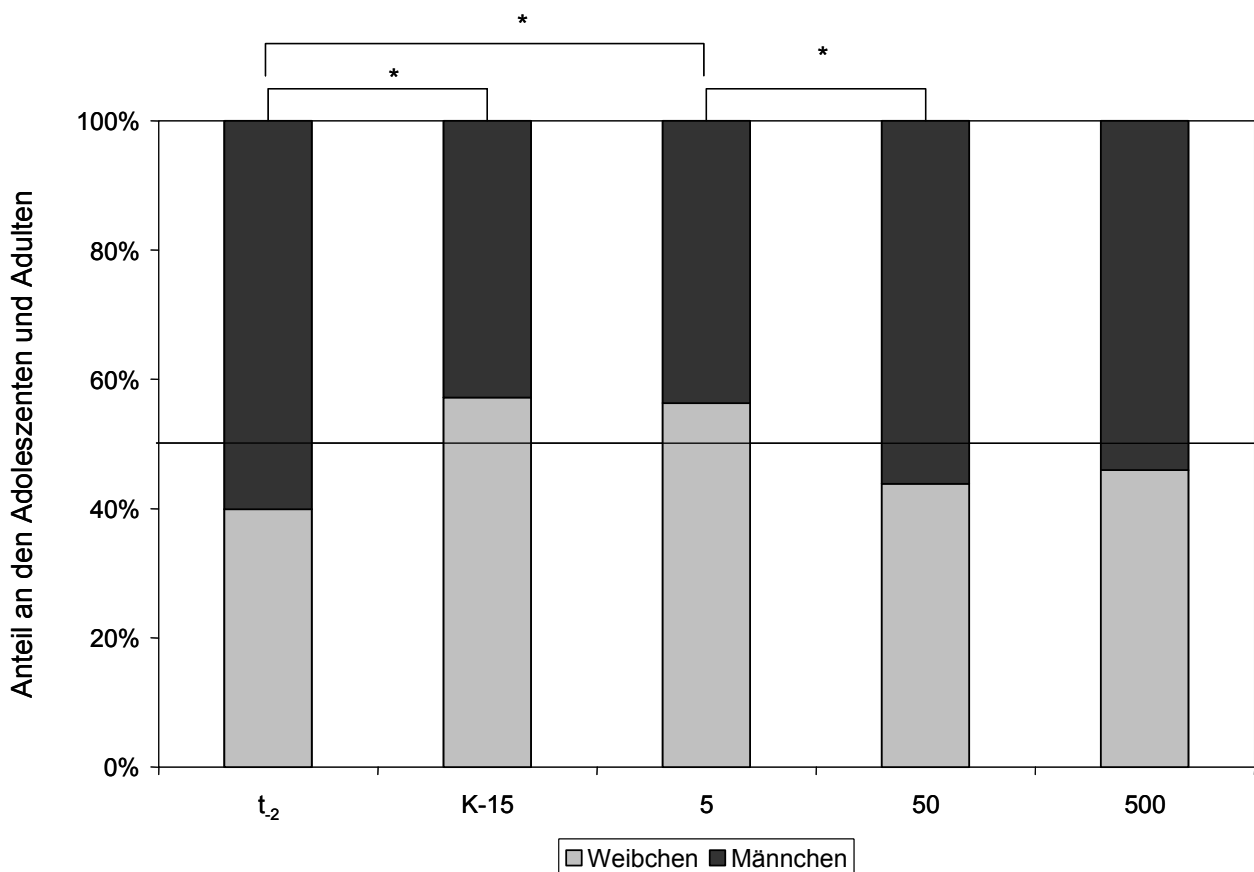


Abb. 60: Geschlechterverhältnis in den Gammaridenpopulationen in den Fließrinnen bei Versuchsende sowie im Subsample von t_2 (entspricht Startpopulation).*: signifikante Unterschiede zu den anderen Fließrinnen, $p < 0,05$; Linie: 1:1-Verhältnis zwischen Männchen und Weibchen.

Das Geschlechterverhältnis betrug jeweils etwa 1:1. In K-15 und Fließrinne 5 überwogen leicht die Weibchen, in der Startpopulation und in den übrigen beiden Fließrinnen leicht die Männchen. Signifikante Unterschiede waren zwar teilweise vorhanden (Chi²-Test, $p < 0,05$), eine Konzentrations-Wirkungs-Beziehung hingegen sowohl mit als auch ohne Ausschluss der Fließrinne 5 nicht. Eine Verschiebung des Geschlechterverhältnisses zugunsten der Weibchen, wie von Watts et al. (2002) in einem Populationsexperiment mit *G. pulex* bei Exposition gegenüber 17 α -Ethinylostradiol beschrieben wurde, fand demnach mit Bisphenol A nicht statt.

In der Startpopulation wurde ein Intersex gefunden, in den Fließbrinnenpopulationen bei Versuchsende wurden keine Intersexe gefunden. Dieser Unterschied war nicht signifikant (Chi²-Test, $p > 0,05$).

III.3.2.2.6.3 Anteil brütender Weibchen

Der Anteil brütender Weibchen prozentual zum Anteil der adulten Weibchen ist in Abb. 61 dargestellt. Der höchste Anteil brütender Weibchen wurde in der Fließrinne 5 beobachtet, der niedrigste in Fließrinne 500. Die Unterschiede zwischen allen Fließbrinnen waren nicht signifikant (Chi²-Test, $p > 0,05$). Mittels Probitanalyse wurden basierend auf den Nominal- bzw. Effektivkonzentrationen eine EC₅₀ von 500 µg/L (nominal) bzw. 24 µg/L (effektiv) und eine EC₁₀ von 212 µg/L (nominal) bzw. 10 µg/L (effektiv) Bisphenol A berechnet. Da keine normale Konzentrations-Wirkungs-Beziehung beobachtet wurde, war bei der Probitanalyse jeweils eine Berechnung von Konfidenzintervallen und Test auf Signifikanz der Regression aus mathematischen Gründen nicht möglich.

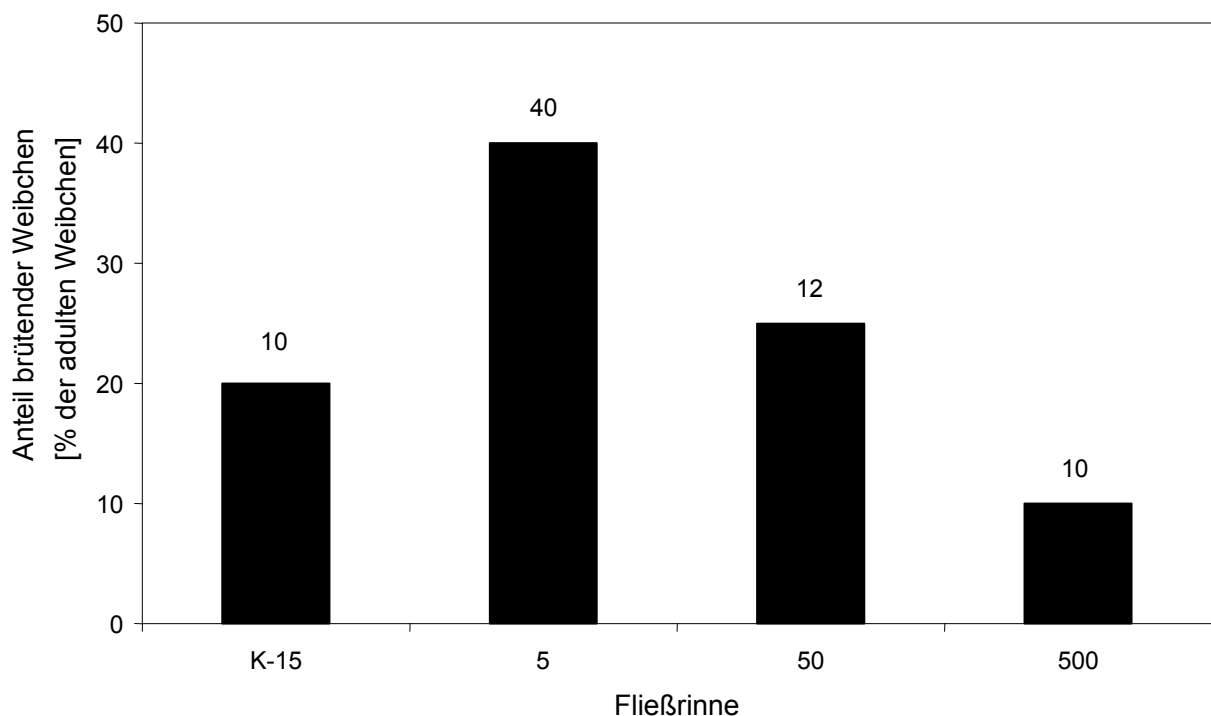


Abb. 61: Anteil brütender Weibchen in den Gammaridenpopulationen der Fließbrinnen bei Versuchsende. Zahlen über den Säulen: n der adulten Weibchen.

III.3.2.2.6.4 Eizahlen und Fekunditätsindex

Die beiden brütenden Weibchen aus K-15 trugen 1 bzw. 2 Eier im Marsupium. Die brütenden Weibchen aus Fließrinne 5 besaßen zwischen 3 und 23 Eier (Median = 11), aus Fließrinne 50 5, 7 und 15 Eier und das einzige brütende Weibchen aus Fließrinne 500 7 Eier.

Den Fekunditätsindex bei den brütenden Weibchen zeigt Abb. 62. Bis auf die Tiere in Fließrinne 5 waren die Stichprobenumfänge sehr klein. Dennoch ist zu erkennen, dass bei den beiden anderen Fließrinnen mit Bisphenol A Fekunditätsindices berechnet wurden, die innerhalb der Schwankungsbreite derjenigen bei Fließrinne 5 lagen. Die Fekunditätsindices bei K-15 waren niedriger. Es gab jedoch zwischen den Fließrinnen keinen signifikanten Unterschied (Kruskal-Wallis-ANOVA, $p > 0,05$).

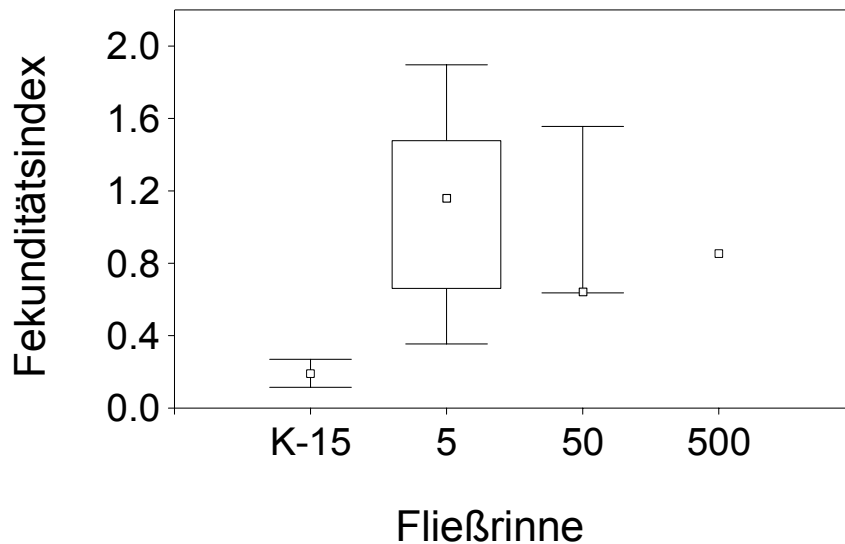


Abb. 62: Fekunditätsindex bei brütenden Weibchen aus den Gammaridenpopulationen in den Fließrinnen bei Versuchsende. Dargestellt sind -wenn aufgrund des Stichprobenumfangs möglich- Median, 25-75%-Perzentile, Minimum und Maximum.

III.3.2.2.6.5 Anteil der Juvenilen

Der prozentuale Anteil der Juvenilen in den Gammaridenpopulationen der Fließrinnen ist in Abb. 63 abgebildet. Der höchste Anteil an Juvenilen wurde in der Population in Fließrinne 5 (50 %) gefunden, der niedrigste Anteil in Fließrinne 500 (5 %). Diese Fließrinnen unterschieden sich jeweils signifikant von allen anderen Fließrinnen bezüglich diesen Endpunkts (Chi²-Test, $p < 0,05$). Mittels Probitanalyse wurden basierend auf den Nominal- bzw. Effektivkonzentrationen eine EC₅₀ von 339 µg/L (nominal) bzw. 18 µg/L (effektiv) und eine EC₁₀ von nominal 153 µg/L bzw. 10 µg/L (effektiv) Bisphenol A berechnet. Da keine normale Konzentrations-Wirkungs-Beziehung beobachtet wurde, war bei der Probitanalyse jeweils eine Berechnung von Konfidenzintervallen und Test auf Signifikanz der Regression aus mathematischen Gründen nicht möglich.

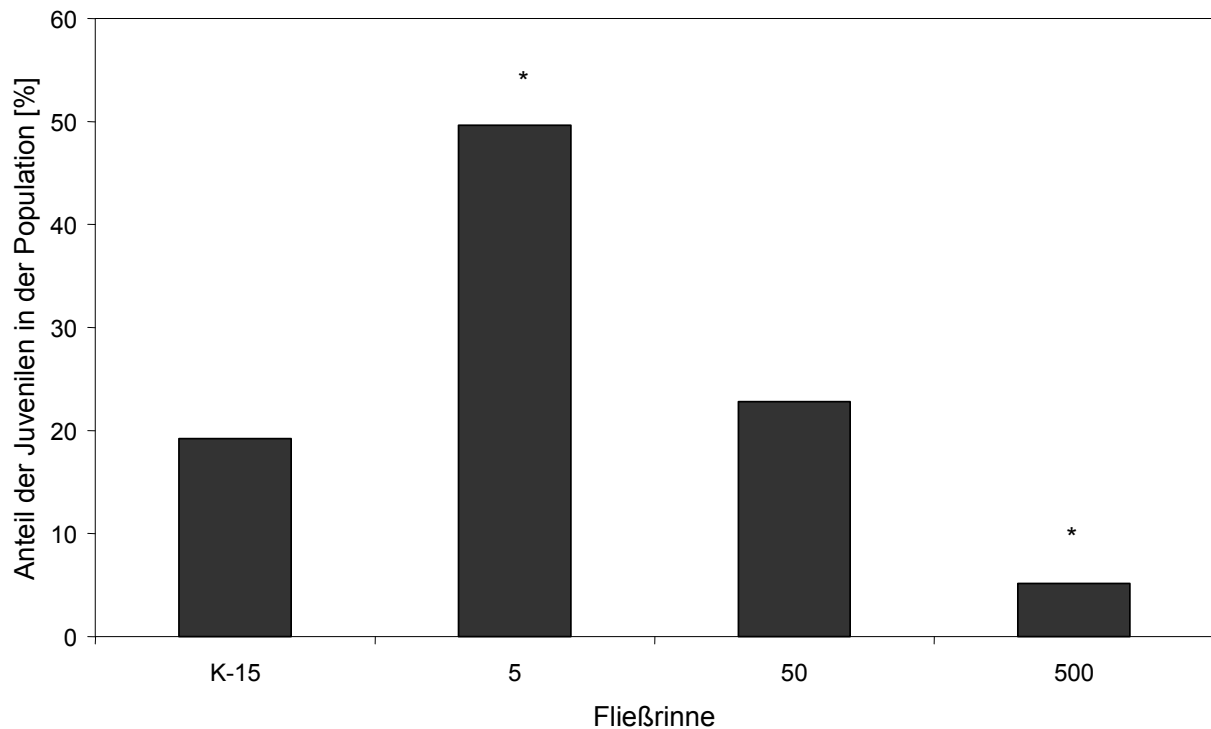


Abb. 63: Anteil der Juvenilen in den Gammaridenpopulationen der Fließbrinnen bei Versuchsende. *: signifikante Unterschiede zu den anderen Fließbrinnen, $p < 0,05$.

III.3.2.2.6.6 Körperlängen

In Abb. 64 ist die Körperlängenverteilung der Gammariden in der Startpopulation (t₂-Subsample) sowie bei Versuchsende in den Fließbrinnen dargestellt. Bei Versuchsende lebten in allen Fließbrinnen weniger L-Tiere (> 9 mm Körperlänge) als in der Startpopulation eingesetzt wurden. Dies ist vermutlich darauf zurückzuführen, dass die ältesten Tiere im Verlauf des Experiments gestorben sind und nicht entsprechend viele aus den kleineren Längenklassen nachgewachsen sind.

Das Verteilungsmuster der Körperlängen ist zwischen K-15 und Fließrinne 50 ähnlich. Die Schwankungen in der Anzahl von Gammariden der mittleren Körperlängenklassen in Fließrinne 500 resultierten vermutlich aus dem geringen Stichprobenumfang von $n = 39$.

Ein anderes Verteilungsmuster zeigte Fließrinne 5: Hier wurde die größte Anzahl an Gammariden in den Körperlängenklassen zwischen 2 bis 4 mm ermittelt.

Außerdem wurde die Körperlänge gesondert nach Stadium bzw. Geschlechtern betrachtet (Abb. 65).

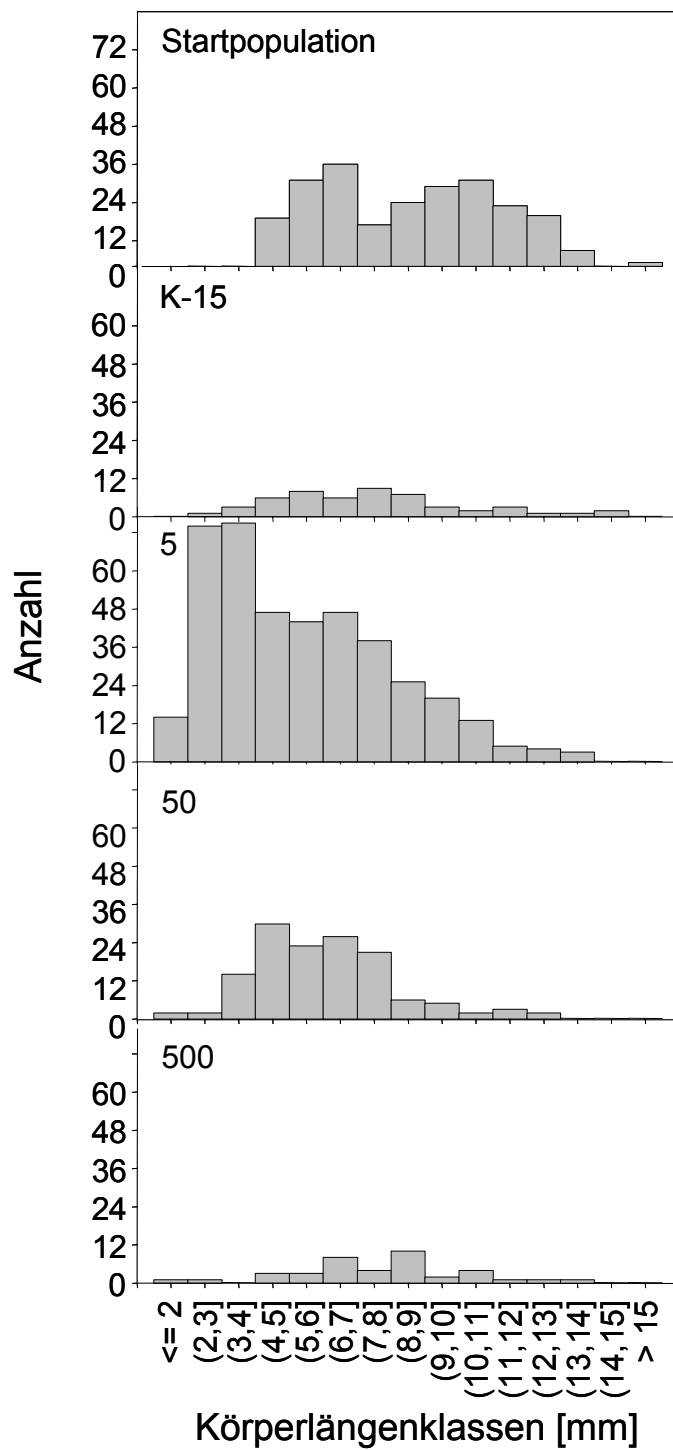


Abb. 64: Körperlängenverteilung in der Startpopulation (t_2 -Subsample) sowie den Gammaridenpopulationen in den Fließrinnen bei Versuchsende.

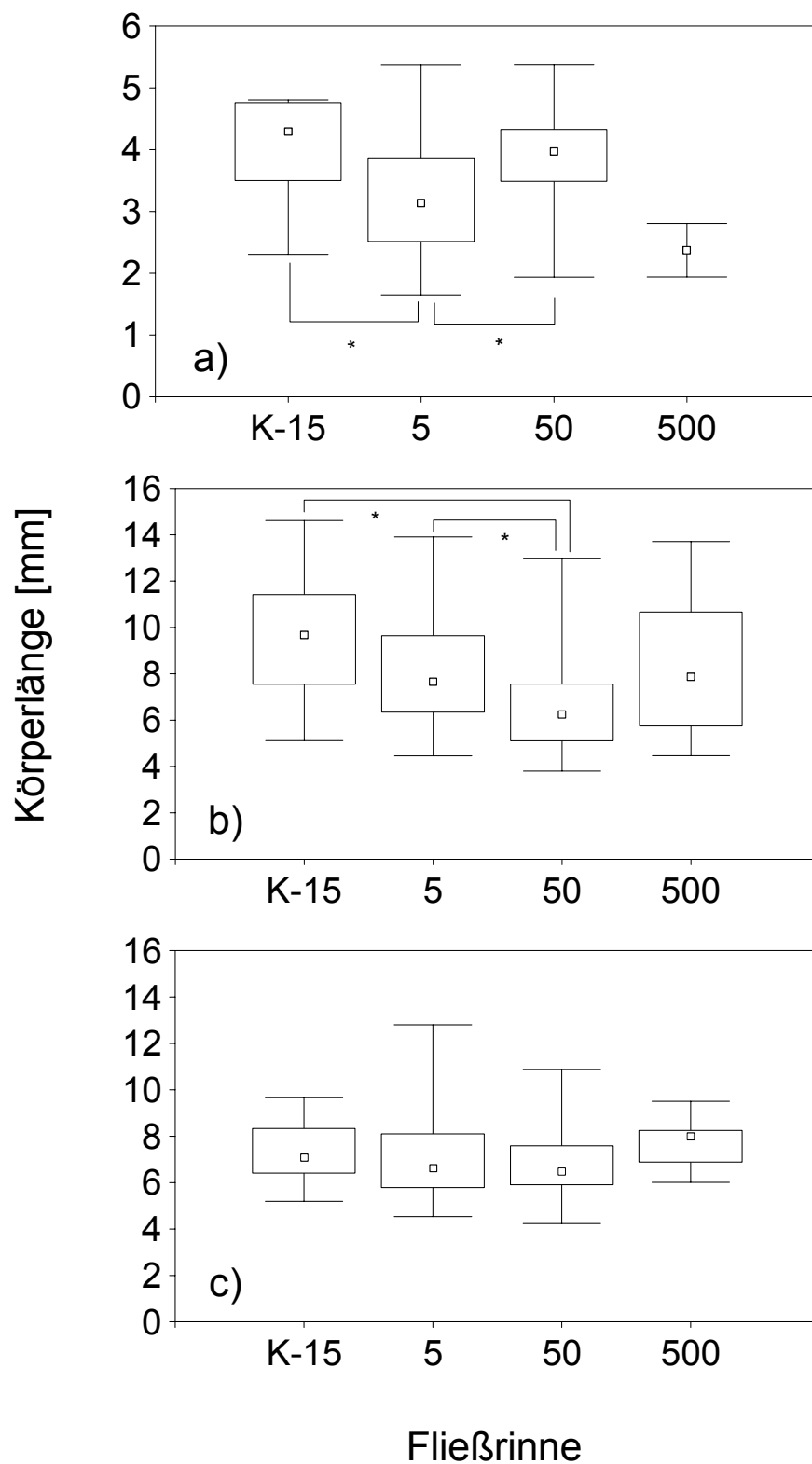


Abb. 65: Körperlänge von a) Juvenilen, b) Männchen und c) Weibchen in den Gammaridenpopulationen der Fließrinnen bei Versuchsende. Dargestellt sind Median, 25-75%-Perzentile, Minimum und Maximum. *: signifikanter Unterschied mit $p < 0,0083$.

Die Körperlänge der Juvenilen war signifikant unterschiedlich (Kruskal-Wallis-ANOVA, $p < 0,05$) (Abb. 65a)). Der anschließende Mann-Whitney U-Test ($p < 0,0083$ wegen Bonferroni-Korrektur) zeigte signifikante Unterschiede in der Körperlänge der Juvenilen zwischen Fließrinne 5 und 50 sowie zwischen 5 und K-15. In der Fließrinne 500 wurden nur 2 Juvenile gefunden. Somit lag ein zu geringer Probenumfang vor, um einen signifikanten Unterschied detektieren zu können. Die geringere Körperlänge der Juvenilen in Fließrinne 5 könnte daraus resultieren, dass aufgrund der hohen Nitritkonzentration in den ersten 2 Wochen in Fließrinne 5 möglicherweise eine geringere Reproduktion und erhöhte Mortalität der Juvenilen stattfand. Danach könnte sich die Population wieder erholt haben. Dies entspräche der Situation bei den Bruten der MTTs (Kap. III.3.2.2.3.2.4 und Kap. III.3.2.2.4) und Expositionsgefäßen für biochem./histologische Untersuchungen (Kap. III.3.2.2.5.2). Die Reproduktion setzte wahrscheinlich zeitlich versetzt im Vergleich zu den anderen Fließrinnen ein, somit könnten aus diesem Grund die Juvenilen meist jünger und entsprechend kleiner gewesen sein.

Die Körperlänge der Männchen war, mit einer Ausnahme, in Fließrinne 50 signifikant unterschiedlich zu den anderen Fließrinnen (Kruskal-Wallis-ANOVA mit $p < 0,05$ und anschließender Mann-Whitney U-Test mit $p < 0,0083$ wegen Bonferroni-Korrektur) (Abb. 65b)). Bei der Ausnahme handelte es sich um Fließrinne 500. Eine Erklärung für diese Unterschiede bei den Männchen liegt nicht vor.

Die Körperlänge der Weibchen war zwischen den Fließrinnen nicht signifikant unterschiedlich (Kruskal-Wallis-ANOVA mit $p > 0,05$) (Abb. 65c)).

Eine Konzentrations-Wirkungs-Beziehung beim Endpunkt Körperlänge lag sowohl bei den Juvenilen als auch Adulten weder bei Einschluss der Fließrinne 5 noch bei ihrem Ausschluss aus der Betrachtung vor.

III.3.2.2.6.7 Drift

5 x pro Woche wurde täglich die Drift (Anzahl der lebenden Gammariden am Absperrgitter vor dem Auffangbecken) in der jeweiligen Fließrinne erfasst. Dies war jedoch nicht immer möglich, da die Absperrgitter an manchen Tagen wegen starker Veralgung der Fließrinnen offengelassen werden mussten. Dies geschah in den unterschiedlichen Fließrinnen teilweise zu unterschiedlichen Zeiten während des Experiments, so dass eine vergleichende Betrachtung dieses Endpunkts nur bedingt möglich ist. Die in Abb. 66 dargestellten Ergebnisse können daher nur als semiquantitativ angesehen werden.

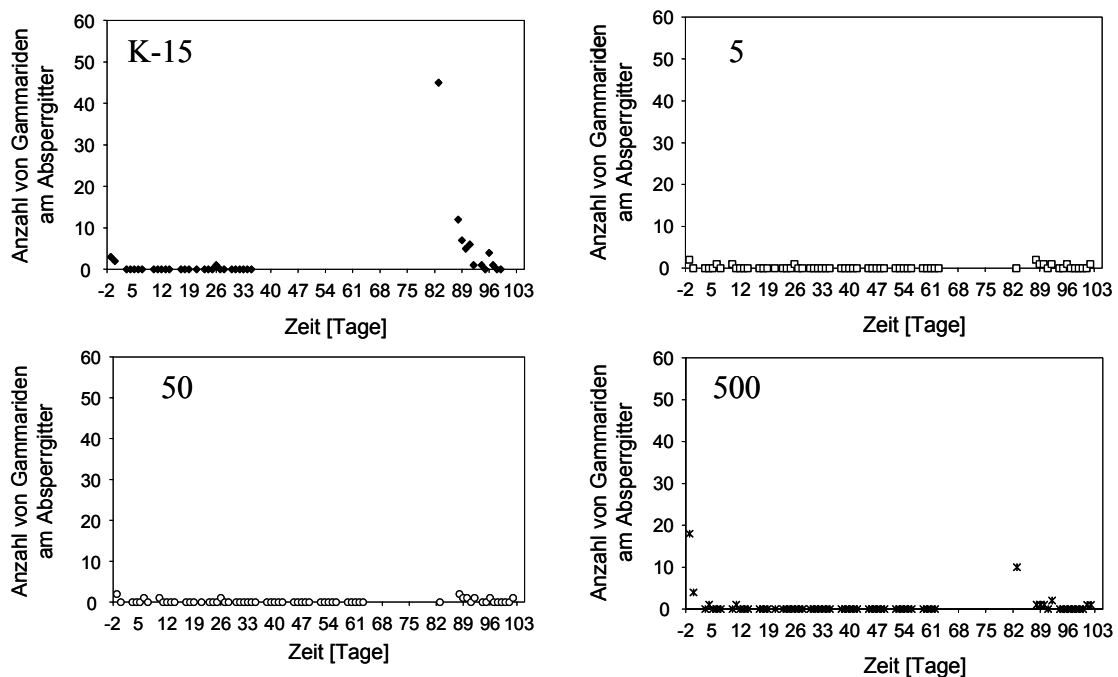


Abb. 66: Drift von Gammariden aus den Populationen in den Fließrinnen. Dargestellt ist die tägliche Anzahl am jeweiligen Absperrgitter vor dem Auffangbecken gefundener, lebendiger Gammariden.

In Abb. 66 ist zu erkennen, dass in allen Fließrinnen in den ersten Tagen nach dem Einsetzen der Tiere etwas Drift vorhanden war. Dies war jedoch bereits am Tag vor Applikation von Bisphenol A der Fall. Eine verstärkte Drift der Gammariden zum Zeitpunkt t_0 als Fluchtreaktion aufgrund der Applikation der Chemikalie fand nicht statt. Vermehrte Drift als Reaktion von Gammariden auf Umweltchemikalien wurde von Dermott & Spence (1984), Liess et al. (1993) und Taylor et al. (1994) beschrieben. Ebenso wurde nach Bisphenol A-Applikation keine vermehrte Aufwanderung von Gammariden als Vermeidungsstrategie (Söderström, 1987) festgestellt. Gegen Ende des Experiments (ab ca. t_{83}) drifteten tendenziell mehr Gammariden in Fließrinne K-15 als in den anderen Fließrinnen. Auch in der anderen Fließrinne ohne Bisphenol A (K-17) drifteten in der 2. Hälfte des Experiments mehr Gammariden als in den Fließrinnen mit Bisphenol A (s. Kap. III.3.3.5.2). Die Drift in diesen beiden Fließrinnen war vermutlich höher als normalerweise zu erwarten gewesen wäre, da sie nicht über den gesamten Verlauf des Experiments in diesem Ausmaß auftrat. Sie könnte daher darauf hindeuten, dass sich die Lebensbedingungen für die Gammariden in den Fließrinnen ohne Bisphenol A im Laufe des Experiments verschlechterten.

Ein Einfluss von Bisphenol A auf die Drift scheint für das Fließrinnenexperiment sowohl mit als auch ohne Berücksichtigung der Fließrinne 5 ausgeschlossen zu sein.

III.3.2.2.6.8 Bedingungen in der Kontrolle K-15

Mehrere Ergebnisse der Populationsuntersuchungen in den Fließbrinnen könnten zu der Annahme führen, dass in K-15 die Lebensbedingungen der Gammariden im Vergleich zu den anderen Fließbrinnen schlechter gewesen sein könnten. Dabei handelte es sich um die geringe Abundanz an Gammariden, den geringen Anteil an Juvenilen und brütenden Weibchen, den geringen Fekunditätsindex und die höhere Drift in den letzten Tagen vor Versuchsende in dieser im Vergleich zu den anderen Fließbrinnen.

Ein Vergleich mit historischen Kontrollen in den Fließbrinnen lieferte keinen Hinweis, inwieweit sich die Population in K-15 „normal“ entwickelt hat. In früher durchgeführten Experimenten mit Gammariden wurden in die verwendeten Fließbrinnen keine größenstrukturierten Populationen eingesetzt. Aufschluss über die „normale“ Entwicklung der Population sowie die natürliche Variabilität in den Endpunkten könnte ein Fließbrinnenexperiment mit mehreren Fließbrinnen ohne Zusatz von Umweltchemikalien geben.

Für die Kontrolle K-15 spricht, dass die physikalisch-chemischen Variablen des Fließbrinnenwassers in K-15 keine relevanten Unterschiede zu den anderen Fließbrinnen aufwiesen. Die Werte für jede dieser Variablen lagen in K-15 jeweils innerhalb der Schwankungsbreite der Werte von allen Fließbrinnen (s. Kap. III.3.2.2.1). Es wurden auch keine qualitativen Unterschiede zwischen K-15 und den anderen Fließbrinnen beobachtet.

Es liegen somit keine konkreten Hinweise dafür vor, dass in K-15 die Lebensbedingungen für die Gammariden schlechter als in den anderen Fließbrinnen gewesen sein könnten.

III.3.2.3 Abschließende Betrachtung zum Einfluss von Bisphenol A auf *G. fossarum* im Fließbrinnenexperiment

Die Nitritkonzentration in den ersten Tagen des Fließbrinnenexperiments war in Fließrinne 5 wesentlich höher im Vergleich zu den anderen Fließbrinnen (Kap. III.3.2.2.1). Dies könnte die Gammariden in Fließrinne 5 beeinflusst haben, so dass möglicherweise die Ergebnisse nicht mit denen der anderen Fließbrinnen zu vergleichen sind. Es lässt sich beispielsweise nicht klären, ob Unterschiede in der Populationsstruktur der Gammariden in Fließrinne 5 bei Versuchsende auf den Einfluss von Bisphenol A oder Nitrit zurückzuführen sind. Die Diskussion wird daher getrennt geführt: Einmal mit und einmal ohne Fließrinne 5.

III.3.2.3.1 Betrachtung der Ergebnisse ohne Ausschluss der Fließrinne 5

Über den gesamten Verlauf des Experiments betrachtet war das Überleben der Juvenilen aus den ersten beiden Bruten der MTT-Tiere in Fließrinne 5 schlechter als in den anderen Fließbrinnen, in der 2. Brut war die Brutgröße sowie der Anteil reproduktiver Weibchen erniedrigt und in der Population die Körperlänge der Juvenilen kleiner gegenüber der in den anderen Fließbrinnen. Diese Unterschiede könnten auf eine toxische Wirkung der relativ hohen Nitritkonzentration am Anfang des Experiments zurückzuführen sein.

Ein Effekt von Bisphenol A könnte bei der Brutgröße der 4. Brut sowie beim Anteil reproduzierender Weibchen für die 3. und 4. Brut in den MTTs vorgelegen haben. Bisphenol A führte jeweils zu einer Herabsetzung der Werte.

Die ermittelte EC_{10} bei der Brutgröße der 4. Brut betrug nominal 11 $\mu\text{g/L}$ und effektiv 0,5 $\mu\text{g/L}$. Wollenberger et al. (2003) berechneten bei *Acartia tonsa* (Copepoda) eine EC_{10} (nominal) von ca. 20 $\mu\text{g/L}$ Bisphenol A des Effekts auf die Hemmung der Eiproduktion bei einer Expositionsdauer von 6 Tagen. Im Gegensatz dazu zeigten Andersen et al. (1999) bei *A. tonsa* eine signifikante Erhöhung der Eiproduktion durch Bisphenol A bei einer Konzentration von 20 $\mu\text{g/L}$. Dieser scheinbare Widerspruch wird geklärt, wenn man das Alter der Versuchstiere betrachtet. Die Eiproduktion war nur bei einem Alter von 10 Tagen aufgrund einer schnelleren Gonadenreifung der Weibchen erhöht (Andersen et al., 1999). Wollenberger et al. (2003) beobachteten die Eiproduktion hingegen zwischen Tag 11 und Tag 17 des Lebens von *A. tonsa*. Marcial et al. (2003) berichten von *Tigriopus japonicus* (Copepoda), dass kein Einfluss von Bisphenol A auf die Fekundität bei adulten Weibchen vorlag, was möglicherweise auf die niedrigen verwendeten Testkonzentrationen von maximal 10 $\mu\text{g/L}$ (nominal) zurückzuführen ist.

Die EC_{50} (effektiv) für die Wirkung von Bisphenol A auf den Anteil reproduzierender Weibchen bei der 4. Brut in den MTTs betrug 14 $\mu\text{g/L}$, die EC_{10} (effektiv) 1,1 $\mu\text{g/L}$. Zusätzlich war

der Fekunditätsindex in der 4. und 5. Brut bei den Weibchen aus dem MTT in Fließrinne 500 niedriger als in den anderen Fließrinnen. Auch in der Gammaridenpopulation in Fließrinne 500 könnte sich Bisphenol A hemmend auf die Reproduktion ausgewirkt haben, da der Anteil an brütenden Weibchen und der Anteil an Juvenilen geringer war verglichen mit denen in den anderen Populationen.

Somit weisen einerseits mehrere Reproduktionsvariablen auf einen negativen Einfluss von Bisphenol A hin. Andererseits war die Abundanz sowie der Anteil an brütenden Weibchen und an Juvenilen in der Population in der Fließrinne 5 (Fließrinne mit der niedrigsten Konzentration) weit höher im Vergleich zu den anderen Fließrinnen bei Versuchsende. Falls die anfangs erhöhte Nitritkonzentration keine Wirkung auf die Gammariden in Fließrinne 5 gehabt haben sollte, könnten die Ergebnisse aus den Populationen bezüglich des Anteils brütender Weibchen und des Anteils der Juvenilen auf einen fördernden Einfluss von Bisphenol A bei geringen Konzentrationen hindeuten. Bei Gastropoden wurde solch eine „inverted U-shape“-Konzentrations-Wirkungs-Beziehung des Effekts von Bisphenol A auf die Reproduktion nachgewiesen (Jobling et al., 2003). Die Befunde aus den MTTs sprechen für *G. fossarum* allerdings dagegen, wobei vermutlich die Ergebnisse aus den MTTs nicht direkt auf die Fließrinnenpopulation übertragbar sind.

Nicht ausgeschlossen werden kann ferner die Möglichkeit, dass die Unterschiede in der Abundanz der Gammariden in den Fließrinnenpopulationen die natürliche Schwankungsbreite in diesem System repräsentierten. In zukünftigen Experimenten sollte daher die natürliche Variabilität der verschiedenen Endpunkte in den Fließrinnen ohne Chemikalienzusatz untersucht werden.

Im Zeitraum nach 70 Tagen Exposition bis zum Versuchsende nahm die Mortalität der Adulten in den MTTs und Expositionsgefäßen in allen Fließrinnen zu. Gleichzeitig erhöhte sich der Level des Stressproteins hsp70 in den Gammariden (Jungmann et al., 2004a). In histologischen Untersuchungen der weiblichen Gonaden nahm die Zellfläche der Oozyten im frühen vitellogenen Stadium (EVO) ab, während die Atresie bei Eiern im spätvitellogenen Stadium (LVO) zunahm (Jungmann et al., 2004a). Diese Befunde von verschiedenen biologischen Ebenen weisen darauf hin, dass sich vermutlich die Lebensbedingungen der Gammariden bei zunehmender Dauer des Experiments in den Fließrinnen verschlechterten. Im Hälterungsversuch bei wöchentlichem Mediumwechsel zeigten Gammariden im gleichen Medium über 16 Wochen eine geringe Mortalität (s. Kap. III.3.1). In welchem Ausmaß der nicht erfolgte Mediumwechsel im Fließrinnenexperiment zu einer Veränderung der Zusammensetzung des Fließrinnenmediums im Laufe des Experiments führte, und ob dieser oder andere Faktoren für die Zunahme der Mortalität eine Rolle spielten, ist unbekannt. In künftigen Fließrinnenexperimenten sollte die Zusammensetzung des Fließrinnenmediums während des Experiments analytisch geprüft und entsprechend nachdosiert werden. Es wurden mehr Gammariden am Absperrgitter in K-15 gefunden als in den anderen Fließrinnen. Für die Drifterhöhung in K-15

gibt es keine Erklärung, jedoch sollte das Ergebnis nicht überbewertet werden, da es sich nur um semiquantitative Beobachtungen handelte.

III.3.2.3.2 Betrachtung der Ergebnisse bei Ausschluss der Fließrinne 5

Nur in der 2. Brut war das Überleben der Juvenilen aus dem MTT in der höchsten Konzentration (Fließrinne 500) schlechter als in den anderen beiden Fließrinnen. In der 1. und 3. Brut war dieses Muster nicht zu erkennen. Ein Einfluss von Bisphenol A auf die Überlebensfähigkeit von juvenilen Gammariden aus den MTTs scheint daher wohl ausgeschlossen zu sein.

In den Gammaridenpopulationen war der Anteil an brütenden Weibchen und an Juvenilen in der Fließrinne 500 niedriger verglichen mit den anderen beiden Fließrinnen.

Die Brutgröße der ersten 3 Bruten in den MTTs war in Fließrinne 500 am höchsten. Eine Konzentrations-Wirkungsbeziehung lag nicht vor. Gleichzeitig war auch die Abundanz der Juvenilen bis t_{69} in den Expositionsgefäßen für biochem./histologische Untersuchungen in dieser Fließrinne höher als in K-15. Beides deutet folglich auf einen fördernden Einfluss von Bisphenol A auf die Reproduktion hin. Jedoch war bereits in der 3. Brut der Anteil reproduktiver Weibchen im MTT der Fließrinne 500 reduziert.

In der 4. Brut nahm in den MTTs sowohl der Anteil reproduktiver Weibchen als auch die Brutgröße konzentrationsabhängig ab. Auch der Fekunditätsindex (juv) in der 4. Brut und der Fekunditätsindex am Versuchsende bei den brütenden Weibchen aus dem MTT in Fließrinne 500 war wesentlich niedriger als in den anderen MTTs.

Eine Auswirkung der geschädigten Reproduktion auf die Abundanz der Gammaridenpopulation in Fließrinne 500 konnte indes nicht nachgewiesen werden. Die Abundanz entsprach der in K-15. Die Schwankungen in der Abundanz der Gammariden in den Fließrinnen könnten, insbesondere unter Ausschluss der Fließrinne 5, die natürliche Variabilität in der Abundanz repräsentieren. Zudem könnten andere Faktoren, beispielsweise unterschiedliches Wachstum der Gammariden, sich auf die Abundanz der Gammariden in den Populationen ausgewirkt haben, die nicht untersucht worden sind.

III.3.3 Fließbrinnenexperiment zum Einfluss der Wassertemperatur auf *G. fossarum*

III.3.3.1 Ergebnisse der physikalisch-chemischen Variablen im Wasser der Fließbrinnen

Tab. 25 liefert eine Übersicht über die Ergebnisse bezüglich der physikalischen und chemischen Variablen. Mit Ausnahme des gewünschten Unterschieds der Wassertemperatur von K-15 und K-17 wurden keine für die Gammaridenentwicklung relevanten Unterschiede zwischen beiden Fließbrinnen festgestellt. Weitere Details können dem Abschlussbericht des Xehogamm-Projekts (Jungmann et al., 2004a) und dem Anhang (CD-ROM) entnommen werden.

III.3.3.2 Untersuchungen in MTTs (*Multi Tube Traps*)

III.3.3.2.1 Überleben der adulten Gammariden (P-Generation)

Die Abb. 67 zeigt die Überlebenskurven der Adulten in den MTTs der beiden Fließbrinnen ohne Zusatz von Bisphenol A. In jedes MTT wurden 15 Präkopula-Paare von *G. fossarum* eingesetzt. Von diesen insgesamt 30 adulten Tieren pro MTT überlebten bis zum Versuchsende im MTT der Kontrolle mit einer eingestellten Wassertemperatur von 15 °C (K-15) 10 Gammariden (33 %). In der Fließrinne mit einer Wassertemperatur von 17 °C (K-17) überlebte hingegen kein Tier im MTT. In den ersten Wochen des Experiments ähnelten sich die beiden Kurvenverläufe. Nach etwa 6 - 7 Wochen Versuchsdauer nahm die Anzahl der Überlebenden in K-17 stärker ab als in K-15. Die Überlebenszeiten der Gammariden in den MTTs im Gesamtzeitraum des Experiments waren signifikant verschieden (LogRank-Test, $p < 0,05$).

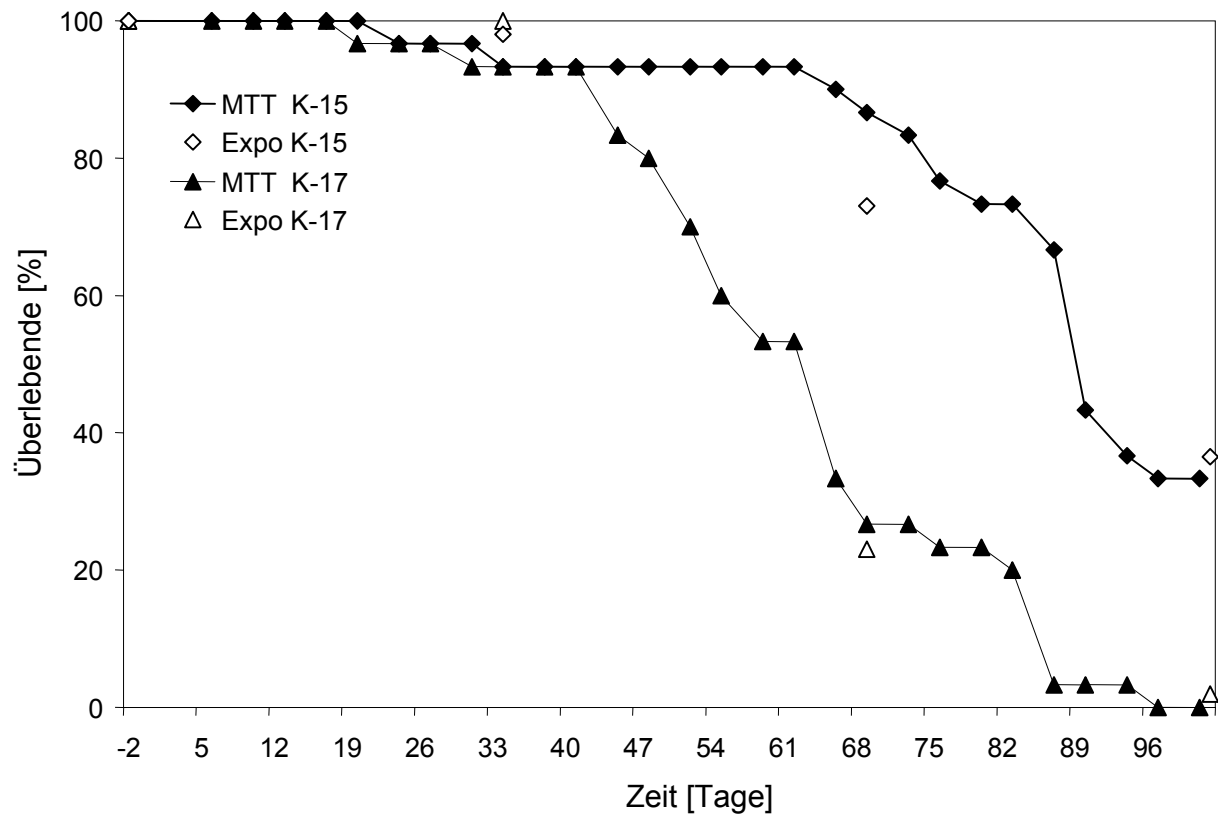


Abb. 67: Überleben der adulten *G. fossarum* in den MTTs (MTT) und Expositionsgefäßen für biochem./histologische Untersuchungen (Expo) der beiden Fließrinnen mit unterschiedlicher Wassertemperatur.

III.3.3.2.2 Reproduktion

III.3.3.2.2.1 Präkopula

Das Vorkommen von Präkopula-Paaren im Verlauf des Experiments zeigt Abb. 68. Alle zu Beginn des Experiments in die MTTs eingesetzten Gammariden befanden sich in Präkopula. Bereits bei der nächsten Präkopulaphase traten innerhalb der jeweiligen Fließrinne Unterschiede zwischen den Paaren auf. Manche Paare befanden sich früher wieder in Präkopula, manche später. Außerdem können individuelle Unterschiede in der Präkopuladauer zu unterschiedlich hohen Häufigkeiten von Präkopula-Paaren in Abb. 68 geführt haben. Unterschiedliche Präkopuladauer bei Paaren bei gleicher Wassertemperatur wurde von Teichmann (1982) beschrieben.

Auch zwischen beiden Fließrinnen sind Unterschiede in Abb. 68 erkennbar. Im MTT in K-17 setzte die nächste und übernächste Präkopula tendenziell früher ein verglichen mit dem in K-15. Dieser Befund wird durch Literaturangaben gestützt. Bei höherer Wassertemperatur ist die Brutentwicklungszeit (Pöckl, 1990 und 1993a), die Dauer des Häutungsintervalls (Teichmann, 1982; Pöckl, 1990) der Weibchen und die Präkopuladauer (Birkhead & Clarkson,

1980) kürzer, so dass die folgende Präkopula früher einsetzen kann. Die Präkopuladauer konnte aufgrund des zu großen Beobachtungsintervalls von 3 bzw. 4 Tagen nicht bestimmt werden.

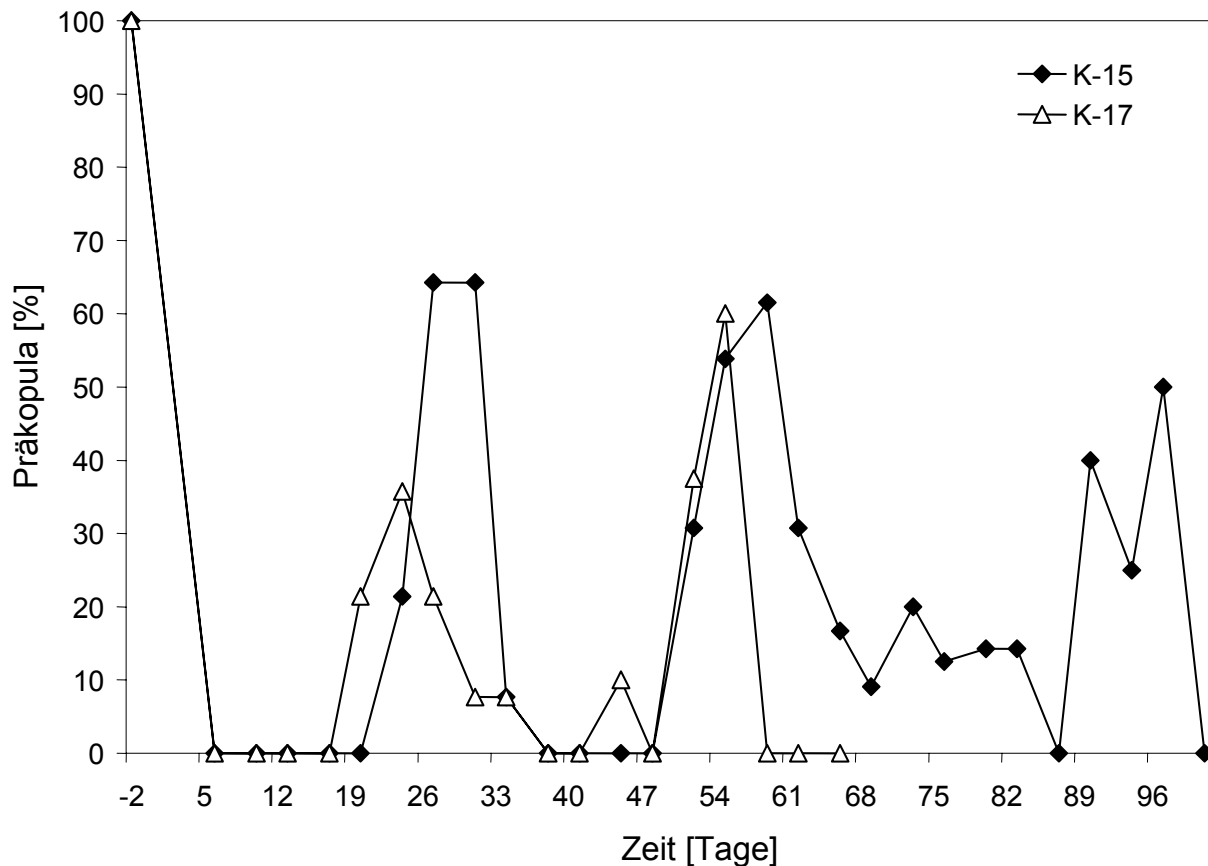


Abb. 68: Anteil der Gammaridenpaare in Präkopula pro MTT in den beiden Fließrinnen mit unterschiedlicher Wassertemperatur.

III.3.3.2.2.2 Brutanzahl

In K-15 wurden 4 Bruten im MTT produziert, dagegen in K-17 wegen der hohen Adultenmortalität nur 3 Bruten.

III.3.3.2.2.3 Brutentwicklungszeit

Die Brutentwicklungszeit wurde für die vorliegende Untersuchung definiert als die Dauer vom ersten Auftreten von Juvenilen einer Brut bis zum Auftreten von Juvenilen in der nächsten Brut pro reproduzierendem Weibchen (s. Kap. III.3.2.2.3.2.3). Die 1. Brut war zu Beginn des Experiments bereits im Marsupium der Weibchen angelegt. Die Brutentwicklungszeit konnte daher erst ab der 2. Brut erfasst werden. Sie wird für die 2. und 3. Brut in Abb. 69 dargestellt.

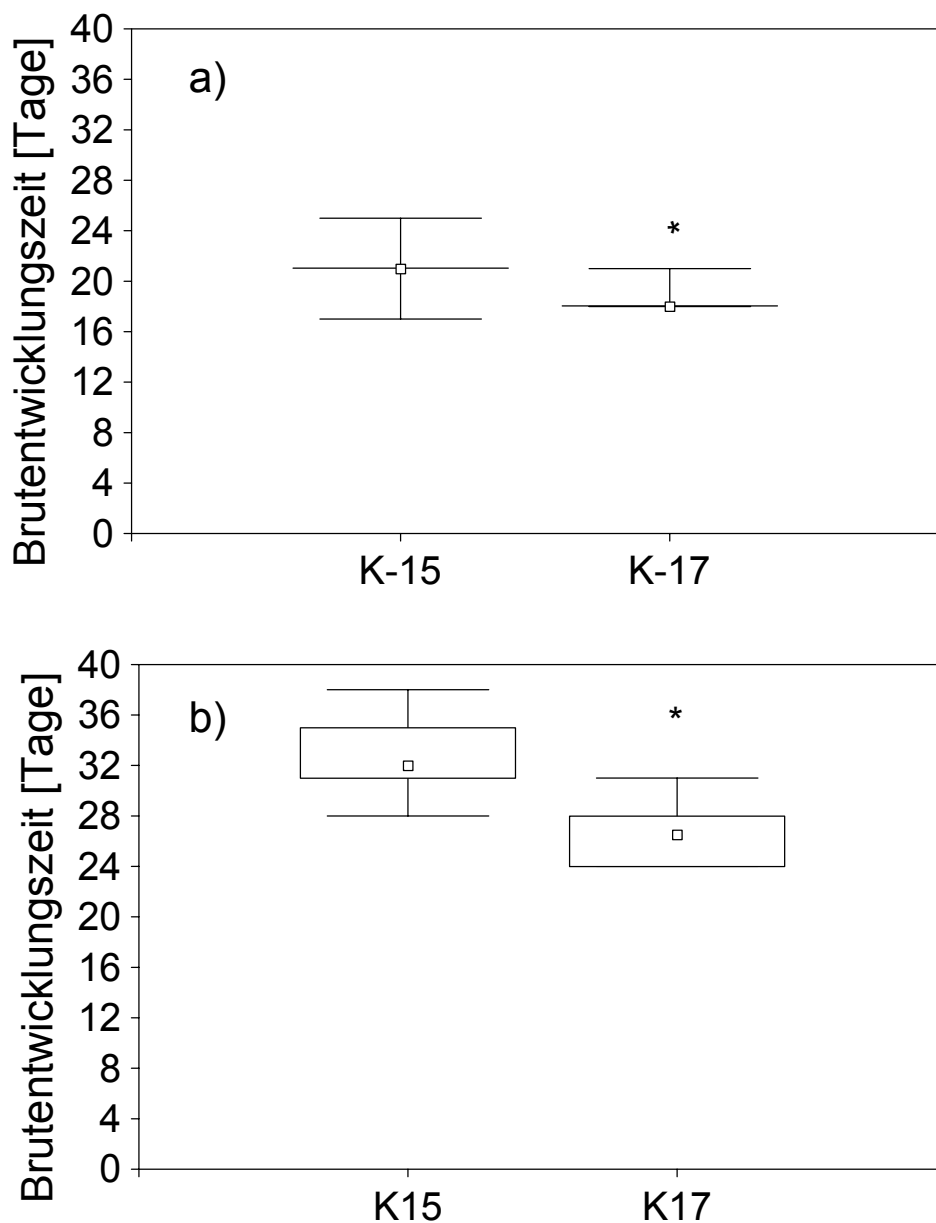


Abb. 69: Brutentwicklungszeit für die a) 2. Brut und b) 3. Brut in den MTTs der beiden Fließrinnen mit unterschiedlicher Wassertemperatur. Dargestellt sind Median, 25-75%-Perzentile, Minimum und Maximum. *: signifikanter Unterschied mit $p < 0,05$.

Die Entwicklungszeit der 2. Brut betrug im Median 21 Tage bei K-15 und 18 Tage bei K-17. Nach Pöckl (1990) berechnet müsste die Brutentwicklungszeit bei 15 °C etwa 23 Tage bzw. bei 17 °C etwa 19 Tage betragen. Die beobachteten Brutentwicklungszeiten ähnelten somit den berechneten.

Die Entwicklungszeit der 3. Brut betrug im Median 32 Tage bei K-15 und 27 Tage bei K-17. Nach Entlassen der 2. Brut aus dem Marsupium erfolgte im MTT noch eine mehrere Tage dauernde Präkopula, bis die nächste Befruchtung erfolgte. Diese Zeit ist in der vorliegenden Untersuchung in der neu definierten Brutentwicklungszeit enthalten, da der Zeitpunkt der

Befruchtung aufgrund der zu großen Beobachtungsintervalle nicht bestimmt werden konnte. Hierdurch ergab sich für die 3. Brut eine größere Dauer als bei der 2. Brut.

Die Brutentwicklungszeit im MTT in K-17 war sowohl für die 2. als auch für die 3. Brut signifikant kürzer im Vergleich zu der in K-15 (Mann-Whitney U-Test, $p < 0,05$). Die Ergebnisse bestätigen somit die in der Literatur angegebene Abhängigkeit der Brutentwicklungszeit von der Wassertemperatur bei Gammariden (Welton & Clarke, 1980; Teichmann, 1982; Pöckl, 1990 und 1993a; Sutcliffe, 1992).

III.3.3.2.2.4 Anzahl der Nachkommen

Die Anzahl der aus dem Marsupium der Weibchen entlassenen Nachkommen pro Brut sind in Tab. 34 aufgeführt. Darin ist zu erkennen, dass in K-17 in der 1. und 2. Brut mehr Nachkommen als in K-15 produziert wurden. In der 3. Brut waren es etwa gleich viele Nachkommen.

Tab. 34: Anzahl der aus dem Marsupium der Weibchen entlassenen Nachkommen pro Brut in den MTTs der beiden Fließbrinnen mit unterschiedlicher Wassertemperatur.

Brut	K-15	K-17
1	47	83
2	118	131
3	71	67

Die Anzahl der Nachkommen pro MTT und Brut ist abhängig von der Anzahl der reproduzierenden Weibchen und der Brutgröße jedes dieser produzierenden Weibchen. Im Folgenden werden beide Endpunkte getrennt voneinander betrachtet.

III.3.3.2.2.4.1 Anteil reproduzierender Weibchen

Von den Weibchen, die theoretisch zur Reproduktion fähig waren (s. Kap. III.3.2.2.3.2.5), produzierten in K-15 für die 1. Brut 8 Weibchen (57 %), in K-17 9 Weibchen (60 %) Nachwuchs. Diese Brut war bereits im Freiland im Marsupium der Weibchen angelegt worden. In den MTTs im Fließbrinnenexperiment sorgten hingegen für die 2. und 3. Brut in beiden Fließbrinnen jeweils alle reproduzierfähigen Weibchen für Nachkommen. Ein Temperatureinfluss auf diesen Endpunkt lag folglich nicht vor.

III.3.3.2.2.4.2 Brutgröße

Die Brutgröße wurde definiert als die Anzahl der aus dem Marsupium entlassenen Jungen pro reproduzierendem Weibchen und ist in Abb. 70 dargestellt.

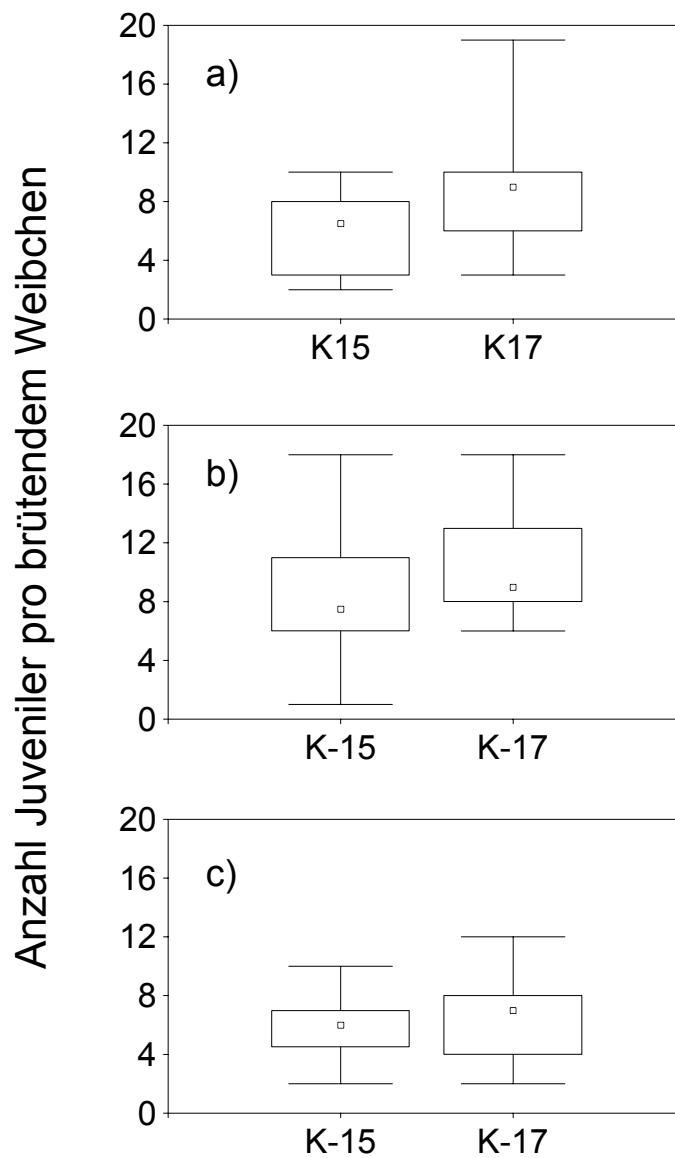


Abb. 70: Brutgröße der a) 1. Brut, b) 2. Brut und c) 3. Brut in den MTTs der beiden Fließrinnen mit unterschiedlicher Wassertemperatur. Dargestellt sind Median, 25-75%-Perzentile, Minimum und Maximum.

Die Anzahl reproduzierender Weibchen betrug mindestens $n = 8$. In der 1. Brut, die bereits im Freiland angelegt worden war, betrug die Anzahl der Nachkommen pro Weibchen im Median 6,5 bei K-15 bzw. 9 bei K-17. In der 2. Brut wurden im Mittel 7,5 Juvenile pro Weibchen bei K-15 bzw. 9 bei K-17 aus dem Marsupium entlassen. In der 3. Brut waren es 6 (K-15) bzw. 7 (K-17) Juvenile pro brütendem Weibchen. Nach der in Pöckl (1990) angegebenen Gleichung lässt sich berechnen, dass der Schlüpferfolg bei 15 °C 70,3 % und bei 17 °C 62,4 % beträgt. Werden diese Schlüpferfolge zugrunde gelegt, so waren bei dem kleinsten Median der Anzahl der Nachkommen (K-15, 3. Brut) theoretisch 8,5 Eier ursprünglich im Marsupium enthalten. Beim größten Median (K-17, 1. und 2. Brut) müssten es 14,4 Eier gewesen sein. Pöckl (1990) fand beispielsweise bei 16 °C im Mittel 10,2 Eier im Marsupium bei Weibchen von *G. fossarum*. Die berechneten Werte für die Brutgröße ähneln folglich diesem Literaturwert und liegen innerhalb der Schwankungsbreite der Ergebnisse aus den Freilanduntersuchungen in Kap. II.3.3.4.4.

Tendenziell war in allen 3 Bruten die Anzahl der Nachkommen (Brutgröße) pro brütendem Weibchen im MTT von K-17 höher als im MTT von K-15. Dieser Unterschied war jedoch nicht signifikant (Mann-Whitney U-Test, $p > 0,05$) und bereits bei der Brut vorhanden, die schon zu Beginn des Experiments angelegt gewesen war. Daher kann dieser Unterschied nicht auf die unterschiedliche Wassertemperatur in den Fließrinnen zurückgeführt werden, sondern basiert vermutlich auf der natürlichen Schwankungsbreite dieses Endpunkts. Ein negativer Einfluss der höheren Temperatur auf die Brutgröße, wie er im Freiland in Kap. II.3.3.4.4 sowie bei Pöckl (1990) beschrieben wurde, konnte im Fließrinnenexperiment nicht bestätigt werden.

III.3.3.3 Untersuchungen der F1-Generation aus den MTTs

Pro Fließrinne wurde das Überleben der jeweiligen Brut jeweils in einem Expositionsgefäß beobachtet (s. Kap. III.3.2.2.4).

III.3.3.3.1 Überleben der 1. Brut

Der prozentuale Anteil Überlebender der 1. Brut im Verlauf der Zeit ist in Abb. 71 dargestellt. In den ersten 30 Tagen nach ihrer Geburt sank der Anteil Überlebender in K-15 schneller als in K-17. In beiden Fließrinnen starben jedoch die letzten Juvenilen dieser Brut nach etwa 80 Tagen. Im Gegensatz dazu überlebten beispielsweise bei Pöckl (1990) nach 90 Tagen bei 16 °C 75 % und bei 20 °C 42 % von ebenfalls gruppenweise gehaltenen Juvenilen. Der Grund für die hohe Mortalität in beiden Fließrinnen ist unbekannt.

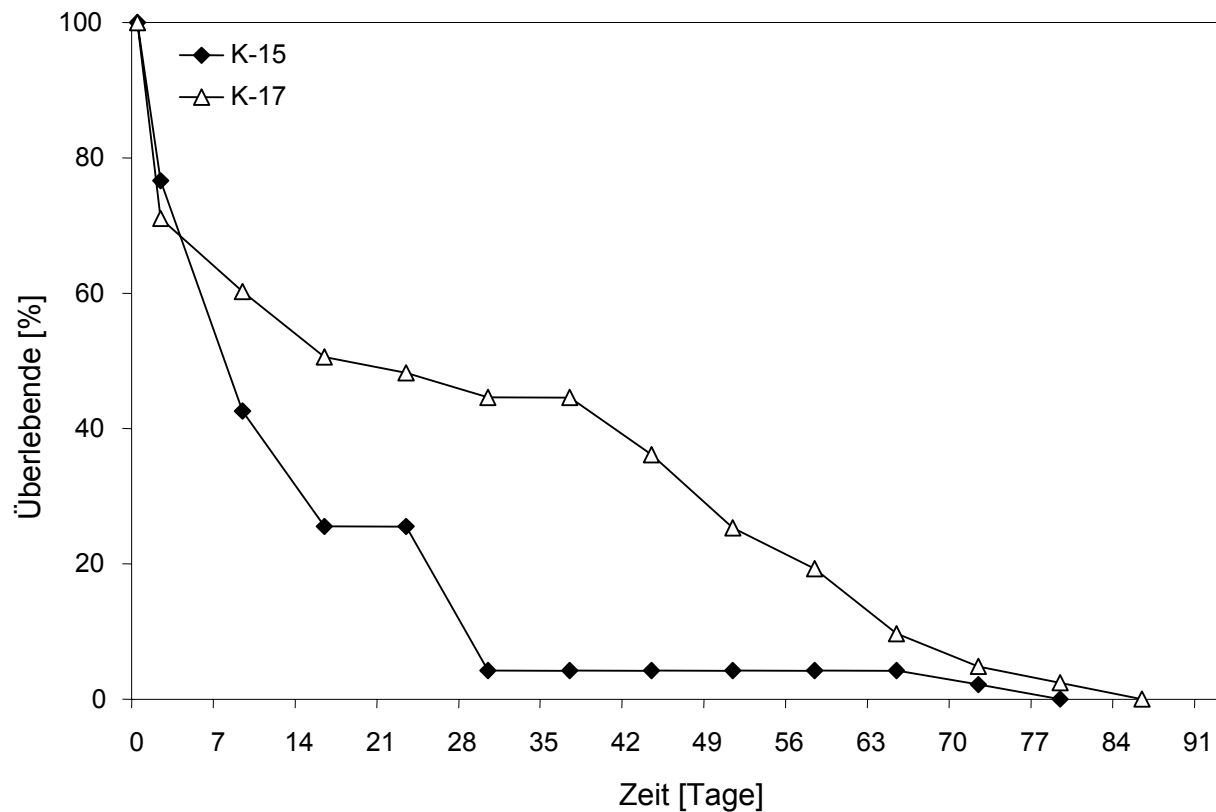


Abb. 71: Überleben der 1. Brut aus den MTTs der beiden Fließrinnen mit unterschiedlicher Wassertemperatur.

III.3.3.3.2 Überleben der 2. Brut

Der prozentuale Anteil Überlebender der 2. Brut im Verlauf der Zeit ist in Abb. 72 dargestellt. In K-15 überlebten bis zum Ende des Experiments 2 % der Juvenilen aus der 2. Brut (mit einem Alter von ca. 62 Tagen). In K-17 waren dagegen bereits nach 21 Tagen alle Juvenilen dieser Brut tot. Die 2. Brut wurde nach der Präkopula zu Beginn des Experiments produziert, war also bereits während ihrer gesamten Entwicklungszeit im Marsupium der Weibchen in K-17 der erhöhten Wassertemperatur ausgesetzt. Möglicherweise wirkte sich dadurch die höhere Wassertemperatur negativ auf die Lebensfähigkeit der Juvenilen aus.

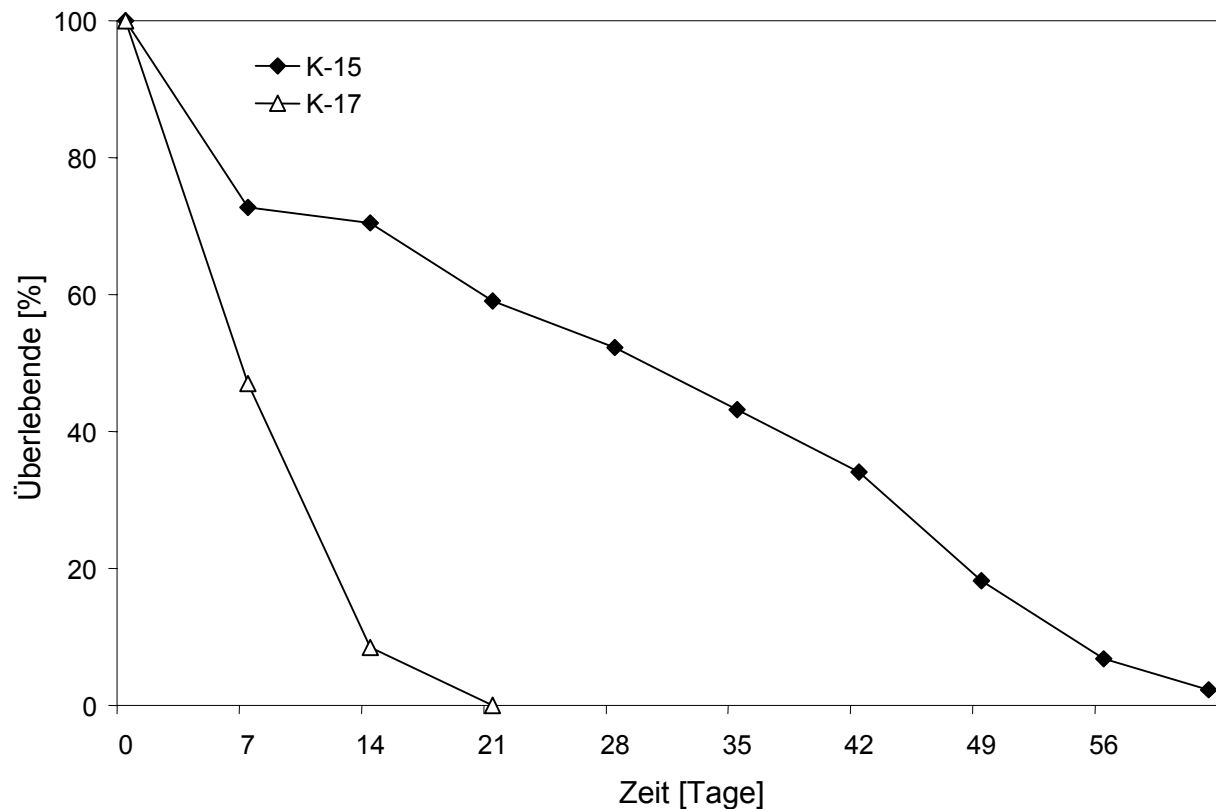


Abb. 72: Überleben der 2. Brut aus den MTTs der beiden Fließbrinnen mit unterschiedlicher Wassertemperatur.

III.3.3.3.3 Überleben der 3. Brut

Der prozentuale Anteil Überlebender der 3. Brut im Verlauf der Zeit ist in Abb. 73 dargestellt. Von der 3. Brut überlebten in beiden Fließbrinnen keine Juvenilen. 100 % Mortalität wurde schneller in K-17 (nach 14 Tagen) als in K-15 (nach 28 Tagen) erreicht. Unabhängig von der Wassertemperatur war die Mortalität der 3. Brut hoch. Wahrscheinlich waren nicht nur die Juvenilen selbst, sondern bereits ihre Eltern in den Fließbrinnen gegen Ende des Experiments geschädigt/gestresst. Zusätzlich schien die erhöhte Wassertemperatur bei K-17 diesen Effekt zu verstärken.

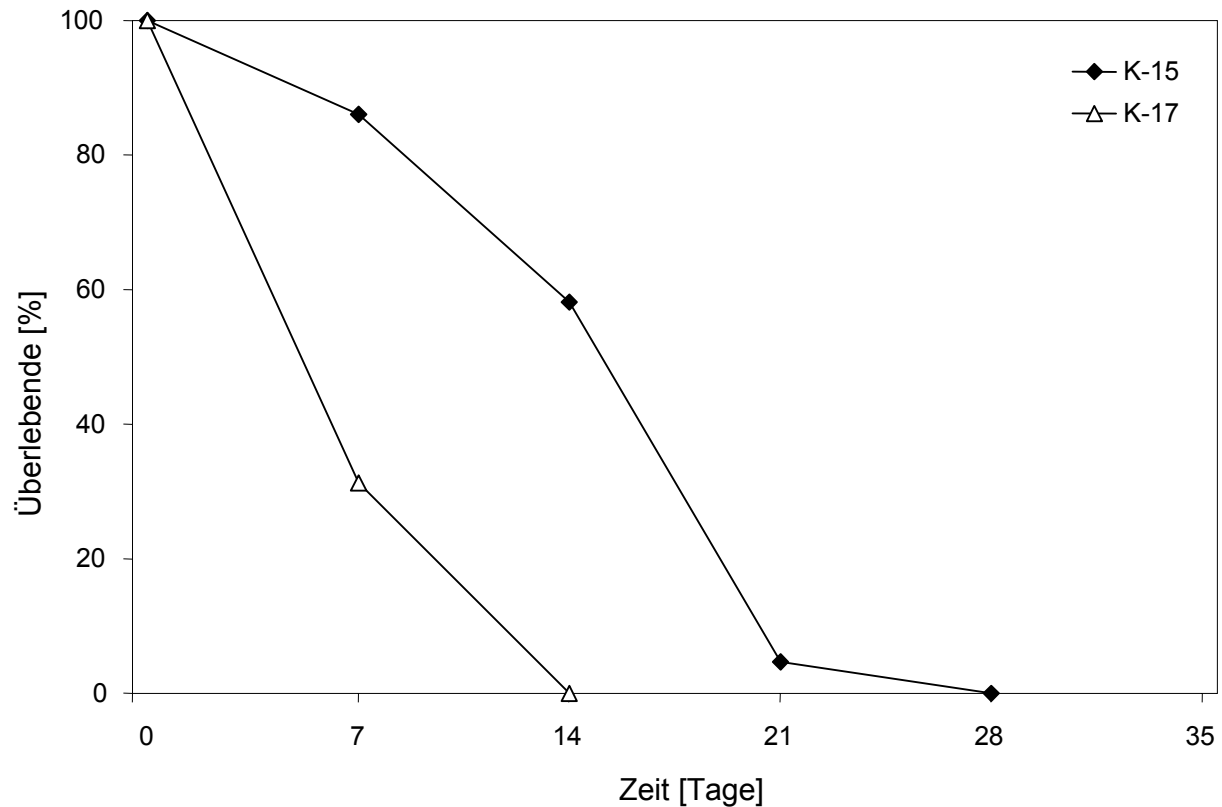


Abb. 73: Überleben der 3. Brut aus den MTTs der beiden Fließbrinnen mit unterschiedlicher Wassertemperatur.

III.3.3.4 Untersuchungen in Expositionsgefäßen für biochem./histologische Untersuchungen

III.3.3.4.1 Überleben der adulten Gammariden (P-Generation)

Das Überleben der eingesetzten 52 adulten *G. fossarum* (26 Präkopula-Paare) ist vergleichend mit dem der Adulten aus den MTTs in Abb. 67 dargestellt. Man kann erkennen, dass der Verlauf der Überlebenskurven der MTT-Tiere das Überleben der Tiere in den Expositionsgefäßen gut widerspiegelte, da beide Verläufe sich pro Fließrinne ähnelten. Bei Versuchsende hatten im Expositionsgefäß in K-15 37 % der eingesetzten Adulten überlebt, in K-17 nur ein Tier (2 %).

III.3.3.4.2 Abundanz der juvenilen Gammariden (F1-Generation)

In beiden Fließrinnen fand Reproduktion in den Expositionsgefäßen für biochem./histologische Untersuchungen statt. Die meisten Juvenilen wurden nach dem ersten der 5-wöchigen Probenahmeintervalle gezählt, danach erfolgte in beiden Fließrinnen eine Abnahme der Abundanz dieser Juvenilen (Abb. 74).

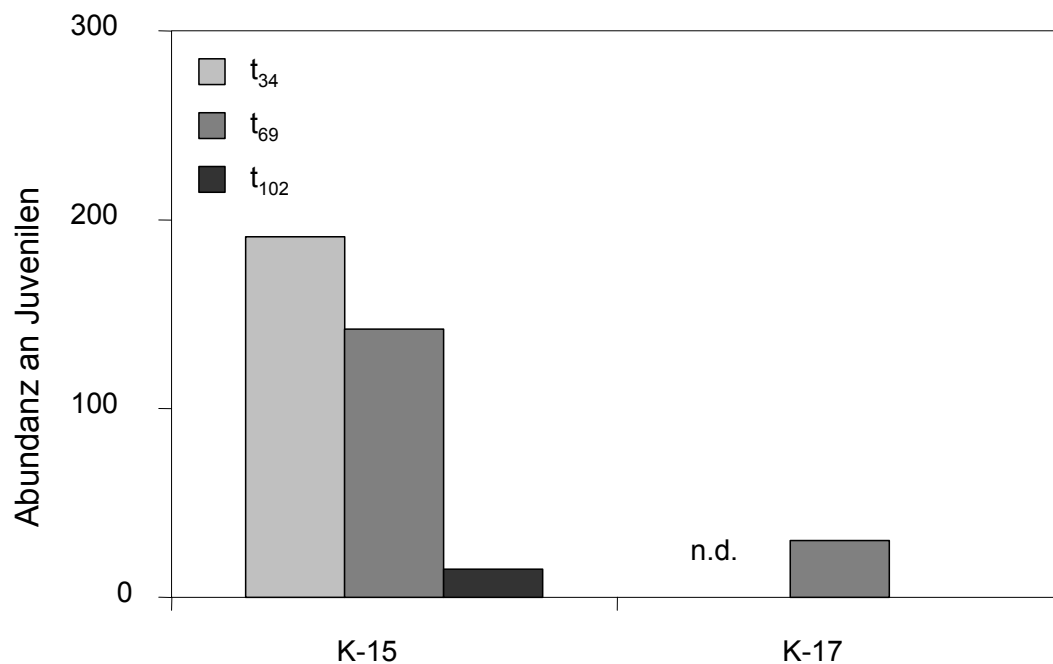


Abb. 74: Abundanz der juvenilen *G. fossarum* in den Expositionsgefäßen für biochem./histologische Untersuchungen. n.d.: nicht bestimmt.

In K-15 sank die Abundanz der Juvenilen von 191 (nach 5 Wochen) auf 15 Individuen am Ende des Experiments. Für K-17 konnte die genaue Abundanz der Juvenilen in dem Expositionsgefäß nach 5 Wochen leider nicht bestimmt werden. Sie war jedoch nach Schätzung per Augenmerk vergleichbar mit der in K-15. Bereits nach 10 Wochen betrug die Abundanz der Juvenilen in K-17 nur noch etwa ein Fünftel der Abundanz der Juvenilen in K-15. Bei Versuchsende war kein juveniles Tier im Expositionsgefäß der Fließrinne K-17 vorhanden.

III.3.3.5 Populationen in den Fließrinnen

III.3.3.5.1 Abundanzen

In K-17 wurden bei Versuchsende keine Gammariden in der Gesamtfließrinne gefunden. In K-15 waren dagegen 52 Gammariden vorhanden.

III.3.3.5.2 Drift

Zur semiquantitativen Erfassung der Drift von *G. fossarum* wurden fast täglich die an die Absperrgitter angedrifteten, lebendigen Tiere gezählt und in die Fließrinne zurückgesetzt. Die Anzahlen dieser Gammariden sind in Abb. 75 dargestellt.

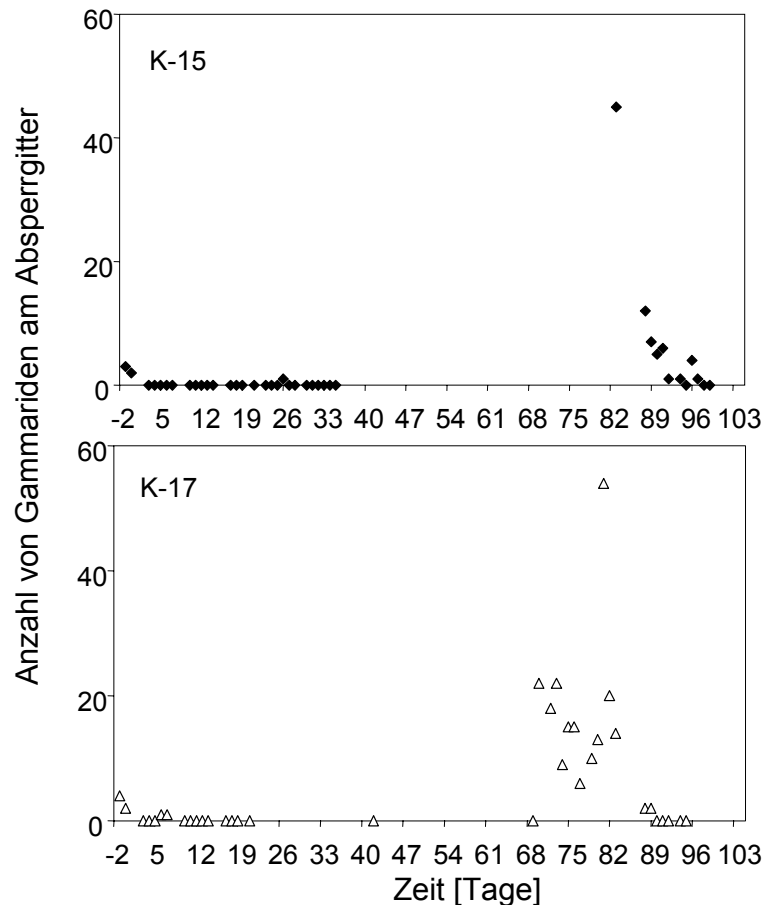


Abb. 75: Drift von *G. fossarum* in den Fließrinnen mit unterschiedlicher Wassertemperatur. Dargestellt ist die tägliche Anzahl am jeweiligen Absperrgitter vor dem Auffangbecken gefundener, lebendiger Gammariden.

Man kann erkennen, dass nach dem Einsetzen der Gammariden und am folgenden Tag in beiden Fließrinnen eine leichte Drift vorhanden war. Daraufhin wurden etwa in den ersten 3 Wochen des Experiments keine lebenden Gammariden an den Absperrgittern gefunden. In den folgenden Wochen war eine Erfassung der Drift nicht möglich, da aufgrund der starken Veralgung die Absperrgitter hochgezogen werden mussten. Erst ab t_{83} (K-15) bzw. t_{69} (K-17) konnte die Drift wieder erfasst werden. Ab diesen Zeitpunkten fand in beiden Fließrinnen Drift statt. Das Ausmaß der Drift ähnelte sich zwischen den Fließrinnen, ein Temperatureffekt war nicht zu erkennen. Die Driftbeobachtungen zeigten, dass mindestens bis t_{89} noch Gammariden der Fließrinnenpopulation in K-17 lebten.

III.3.3.6 Abschließende Betrachtung zum Einfluss der Wassertemperatur auf *G. fossarum* im Fließbrinnenexperiment

In der Fließrinne K-17 konnten Effekte der Wassertemperatur auf die Entwicklung und das Überleben von *G. fossarum* durch den Vergleich mit der Fließrinne K-15 festgestellt werden.

In allen Formen der Exposition (im MTT, in Expositionsgefäßen und als Fließbrinnenpopulation) wurde eine sehr hohe Mortalität sowohl bei den Adulten als auch bei den Juvenilen beobachtet. Pöckl & Humpesch (1990) beschrieben einen Temperaturoptimumsbereich von 4 bis 19 °C für *G. fossarum*. Aufgrund dieser Literaturangabe wäre folglich ein direkter Einfluss der Temperatur auf das Überleben der Gammariden in K-17 auszuschließen. Welche indirekten Effekte für die hohe Mortalität der Gammariden in dieser Fließrinne verantwortlich waren, ist unbekannt. Die Befunde von verschiedenen biologischen Ebenen weisen darauf hin, dass sich vermutlich die Lebensbedingungen der Gammariden bei zunehmender Dauer des Experiments in allen Fließbrinnen verschlechterten (s. Kap. III.3.2.3.1). Im Zschonerbach, aus dem die Gammariden stammten, beträgt die Wassertemperatur auch im Hochsommer nur etwa 12 °C (Petzsch, 2002). Möglicherweise waren die Gammariden an die geringeren Temperaturen im Bachwasser adaptiert, so dass die Temperaturerhöhung in K-17 einen zusätzlichen Stress für die Gammariden bedeutete.

Gemäß der Literatur verkürzte sich aufgrund der höheren Wassertemperatur die Brutentwicklungszeit bei den Weibchen im MTT der Fließrinne K-17 verglichen mit der bei den Weibchen in K-15. Dagegen konnte die ebenfalls beschriebene Reduktion der Brutgröße mit Zunahme der Wassertemperatur oberhalb eines Optimums von 12 °C (Pöckl, 1990) nicht bestätigt werden.

IV EINFLUSS VON BISPHENOL A AUF DIE OSMOREGULATION VON *GAMMARUS LACUSTRIS*

IV.1 Einleitung

In Kap. III.3.2.2 wurde ein Einfluss von Bisphenol A auf mehrere Reproduktionsendpunkte bei Gammariden im Fließrinnenexperiment nachgewiesen. Ob bei den verwendeten Konzentrationen auch nichtendokrine subletale Endpunkte oder andere hormonelle Stoffwechselwege gestört sein könnten, kann nicht ausgeschlossen werden.

Die Aufrechterhaltung des osmotischen Gleichgewichts ist für Organismen ein wichtiger Prozess. Sutcliffe (1984) berechnete beispielsweise, dass *G. pulex* 11 % seiner Energieressourcen für die Osmoregulation aufwenden muss. Störungen der osmo- und ionoregulatorischen Kapazität von Organismen werden daher als frühes Warnsignal für die Einwirkung von diversen Stressoren auf Organismen benutzt (Lignot et al., 2000). Die osmoregulatorische Kapazität (OC) in Crustaceen ist definiert als der Unterschied zwischen dem osmotischen Druck der Hämolymphe und dem des externen Mediums bei einer bestimmten Salinität. In Süßwasserorganismen wird ein höherer osmotischer Druck als im umgebenden Medium aufrechterhalten, es findet also Hyper-OC statt (Lignot et al., 2000). Die Osmolalität ist definiert als die Konzentration aller osmotisch wirksamen Teilchen in einer Lösung. Sie besitzt die Einheit Osmol der gelösten Stoffe pro kg Lösungsmittel. Während die Osmolalität als Gesamtmaß für die OC herangezogen werden kann, geben Veränderungen in der Ionenzusammensetzung der Hämolymphe Hinweise auf mögliche zugrundeliegende Mechanismen (Spicer et al., 1998).

Untersuchungen der osmoregulatorischen Kapazität als Biomarker für Stressoren wurden bei Crustaceen bereits durchgeführt. Beispielsweise berichteten Lignot et al. (1998) von einer Verringerung der Osmolalität beim Decapoden *Penaeus japonicus* durch TBTO. DDT hatte keinen Einfluss auf die Osmoregulation bei *Callinectes sapidus* (Leffler, 1975). Lindan (bei *Gammarus duebenii*; Inman & Lockwood, 1977), Endosulfan (bei *Ozietelphusa senex senex*; Rajeswari et al., 1989), *p,p'*-DDT (bei *Carcinus maenas*; Jowett et al., 1981) und Kupfer (bei *Gammarus pulex*; Brooks & Mills, 2003) führten zu einer Erniedrigung der Natriumkonzentration in der Hämolymphe dieser Crustaceen. Ein je nach Population und Expositionsdauer unterschiedlicher Einfluss von Zink auf die Osmoregulation von *G. pulex* wurde von Spicer et al. (1998) beschrieben. Eine Übersicht über den Einfluss von Chemikalien auf die Osmoregulation bei Crustaceen wird in Lignot et al. (2000) gegeben.

In der Studie sollte untersucht werden, ob Bisphenol A einen Einfluss auf die Osmoregulation bei Gammariden hat.

IV.2 Material und Methoden

Die Versuche mit *G. lacustris* wurden mit finanzieller Unterstützung durch ein Marie Curie-Stipendium (ENDOCLIMA Marie Curie Training Site; Contract No. EVK1-CT-2002-57003) unter der Anleitung von Prof. Zachariassen (Laboratory of Ecophysiology and Toxicology) am Institutt for Biologi der NTNU Trondheim in Norwegen durchgeführt.

IV.2.1 Charakterisierung von *G. lacustris*

Gammarus lacustris G.O. Sars 1863 ist die einzige Gammaridenart in Norwegen, die nur in Süßwasser vorkommt (Ökland, 1969). Ihre Ausbreitung ist jedoch nicht auf Skandinavien beschränkt, sondern sie ist in weiten Teilen Nord-/Mitteleuropas, Russlands und Nordamerika zu finden (Ökland, 1969). Im Gegensatz zu *G. fossarum* bewohnt *G. lacustris* Seen und langsam fließende Flüsse (Schellenberg, 1942; Ökland, 1969). Mit einer Körperlänge von ca. 15 - 21 mm werden die Adulten dieser Art etwas größer als die von *G. fossarum* (Ökland, 1969). *G. lacustris* wurde bei den Versuchen zur Osmoregulation anstelle von *G. fossarum* verwendet, da letztere Art in Norwegen nicht vorkommt.

IV.2.2 Fang und Hälterung von *G. lacustris*

Die Gammariden wurden am 01.11. und 02.11.2003 im See Vikerauntjønna in der Nähe Trondheims gefangen. Dabei wurde vom Ufer aus ein Handnetz mehrmals über den Seegrund und durch die Vegetation der Flachwasserzone gezogen. Die Gammariden wurden von Hand ausgelesen und in einem mit Seewasser gefüllten 10 L Kunststoffeimer zum Labor transportiert. Die Identifizierung der Art erfolgte mit Hilfe eines Binokulars (M5-96658, Wild) nach Schellenberg (1942) und Ökland (1969).

Die beiden Hälterungsansätze bestanden jeweils aus einem Glasaquarium (L = 60 cm, B = 25 cm, H = 25 cm) mit 20 L Leitungswasser (mindestens 24 h belüftet), einer etwa 1 cm dicken Schicht Korallensand zur Pufferung von pH-Schwankungen (J. O. Evjemo, persönliche Mitteilung) und 3 flachen Steinen (ca. 10x10x2 cm). Das Hälterungswasser wurde belüftet. Beim wöchentlichen Wasserwechsel wurden $\frac{3}{4}$ des Wassers gegen neues, mindestens 24 h belüftetes Leitungswasser ausgetauscht. Zur Fütterung wurden jeweils gemäß einer persönlichen Mitteilung von J. O. Evjemo zwei ca. 10 x 10 x 0,5 cm große Cellulosestücke mit Hilfe der Steine im Aquarium befestigt. Das Lichtregime bestand aus 12 h Licht und 12 h Dunkelheit. Die Akklimation der Gammariden an diese Bedingungen betrug mindestens 4 Tage,

bevor das jeweilige Experiment stattfand. Nach Sutcliffe (1984) brauchen Gammariden beispielsweise 1 - 3 Tage für die Akklimation an eine Temperaturänderung. Die Wassertemperatur während der Hälterung und der Experimente mit *G. lacustris* betrug 15 °C.

IV.2.3 Wirkung von Bisphenol A auf *G. lacustris*

IV.2.3.1 Herstellung der Bisphenol A-Stammlösung

100 mg Bisphenol A (99% Reinheit; Sigma Aldrich) wurden in knapp 1 L Leitungswasser in einem 1 L-Erlenmeyerkolben für 48 h auf einem Magnetrührer gelöst. Danach wurde die Lösung auf 1 L mit Leitungswasser aufgefüllt und bis zur Verwendung in einem Kühlschrank aufbewahrt.

IV.2.3.2 Durchführung des akuten Toxizitätstests mit *G. lacustris*

Der akute Toxizitätstest mit *G. lacustris* wurde weitestgehend entsprechend dem mit adulten *G. fossarum* durchgeführt (s. Kap. III.2.4.2). Hiervon gab es folgende Abweichungen: Die Verdünnung der Stammlösung zur Herstellung der Nominalkonzentrationen erfolgte mit Leitungswasser und nicht mit Medium nach Borgmann (1996). Der Test fand nicht in einem Brutschrank, sondern in einem Kühlraum (15 °C) statt. Die Sauerstoffsättigung wurde mittels einer Oxi330-Messsonde (WTW) und der pH-Wert mit einem Handylab 1 (Schott) gemessen. Die Letalität wurde nur anhand des Endpunkts Immobilisation (keine Reaktion bei mechanischer Reizung) und ohne Hilfe eines Binokulars festgestellt. Vorrangiges Ziel war die Bestimmung der LC₅₀ nach 96 h Expositionsdauer. Die Ist-Konzentrationen von Bisphenol A in den Ansätzen wurden nicht erfasst.

IV.2.3.3 Experiment zum Einfluss von Bisphenol A auf die Osmoregulation bei *G. lacustris*

IV.2.3.3.1 Exposition von *G. lacustris* gegenüber Bisphenol A

Die Exposition erfolgte ähnlich wie in Kap. IV.2.3.2 beschrieben. Die Expositionsdauer betrug 96 h. Davon abweichende Punkte waren: Es wurde versucht, nur Tiere im Zwischenhäutungsstadium zu verwenden (d.h. keine hellen Gammariden), da die Osmoregulation vom Häutungsstadium bei Crustaceen abhängig sein kann (Charniaux-Legendre, 1952). Es wurden für jeden Probenahmezeitpunkt (alle 24 h) 20 Kontrolltiere und jeweils 10 Tiere

pro Bisphenol A-Konzentration verwendet, also insgesamt 280 Tiere. Aufgrund der Ergebnisse aus dem akuten Toxizitätstest sowie der höchsten nominalen Konzentration im Fließbrinnenexperiment mit *G. fossarum* wurden folgende Nominalkonzentrationen eingesetzt: 0,5; 1; 1,8; 3,4 und 6,5 mg/L Bisphenol A. Das Experiment wurde am 13.11.2003 gestartet.

IV.2.3.3.2 Bestimmung der Mortalität

Die Bestimmung der Mortalität erfolgte wie in Kap. IV.2.3.2 beschrieben.

IV.2.3.3.3 Entnahme und Behandlung der Hämolymphe

Mikrokapillaren (Blutkapillaren aus Glas, Volumen 50 µL, Länge 67 mm) wurden über einer Bunsenbrennerflamme ausgezogen und in 2 Teile geteilt (etwa jeweils 4 cm Länge).

Mikrokapillaren derselben Art wurden für die Probenaufbewahrung an einem Ende über einer Bunsenbrennerflamme verschlossen. Sie wurden in flüssiges Paraffin eingetaucht, so dass Paraffin in die Kapillaren hochsteigen konnte. Danach wurden sie ca. 10 Sekunden in einem Zentrifugenröhrchen in einer Universal II-Zentrifuge (Hettich) zentrifugiert, so dass das Paraffin eine Schicht am geschlossenen Ende der Kapillaren bildete.

Für die Hämolympfprobenahme nach 24, 48, 72 und 96 h wurden jeweils 20 Tiere der Kontrolle und je 10 Tiere pro Konzentration verwendet. Das jeweilige Tier wurde mit einer Federstahlpinzette aus dem Expositionsgefäß entnommen und auf Papiertüchern abgetrocknet. Das Tier wurde zwischen Daumen und Zeigefinger gehalten und ein halbes Mikrokapillarstück mit ausgezogener Spitze zwischen zwei Rückensegmenten des Carapax hindurch in die Leibeshöhle eingeführt. Die Hämolymphe stieg durch Kapillarwirkung in das Mikrokapillarstück hoch, dabei wurde das Tier mehrmals leicht gedrückt. Pro Tier konnten etwa 1 bis 6 µL Hämolymphe entnommen werden. Das Kapillarstück mit der Probe wurde mit dem spitzen Ende in eine vorbereitete Mikrokapillare für die Aufbewahrung gesteckt und zusammen in einem Zentrifugenröhrchen ca. 5 Sekunden in einer Universal II-Zentrifuge (Hettich) zentrifugiert. Dadurch geriet die Probe unter der Paraffinschicht luftdicht verschlossen an das geschlossene Ende der Mikrokapillare. Die Proben wurden in einem Gefrierschrank aufbewahrt. Nach der Hämolymphentnahme wurde jedes Tier einzeln in ein 1,5 mL-Eppendorfgefäß (Merck) mit 75 % EtOH überführt.

IV.2.3.3.4 Bestimmung der Osmolalität in der Hämolymphe

Die jeweilige Probe wurde bei Raumtemperatur aufgetaut. Ca. 1 µL Hämolymphe wurde in eine mit flüssigem Paraffin gefüllte B-D Cornwall 2 CC Glasspritze (Becton Dickinson & Co.), an deren Spitze eine ausgezogene Glaskapillare (Capillaries C, Dade International) be-

festigt war, aufgenommen. Pro Probe wurden alle 6 Löcher des Probenhalters für das Osmometer (= 6 Subsamples) gefüllt. Die Osmolalität wurde mit Hilfe eines Nanoliter-Osmometers (Clifton), an das ein Stereomikroskop SV 11 (Zeiss) zur Beobachtung der Probe angeschlossen war, über die Gefrierpunktserniedrigung bestimmt. Die jeweils niedrigste Osmolalität wurde notiert.

IV.2.3.3.5 Bestimmung der Natriumkonzentration in der Hämolymphe

Die jeweilige Probe wurde bei Raumtemperatur aufgetaut. Mit Hilfe einer Mikropipettiereinrichtung wurde ein 1 µL-Aliquot pro Tier entnommen. Die Mikropipettiereinrichtung bestand aus einer elektronischen Mikrometerschraube (Mitutoyo), an die eine Mikropipette (SMI) mit einer Glaskapillare (Capillaries C, Dade International) angeschlossen war. Jedes Aliquot wurde 1:5000 mit 0,1 M HNO₃ (Suprapur, Merck) zu einem Endvolumen von 5 mL in einem 14 mL-Plastikzentrifugenröhrchen verdünnt. Alle verdünnten Proben wurden über Nacht zur gleichmäßigen Verteilung der Probe innerhalb der Verdünnung in einem 5 °C-Kühlraum aufbewahrt.

Die Bestimmung der Natriumkonzentration erfolgte mittels eines Perkin Elmer 2100 Flammen-Atomabsorptionsspektrometers. Als Lichtquelle wurde eine Na/K-Hohlkathodenlampe (Stromstärke 8 mA) verwendet. Die Wellenlänge betrug 589 nm, die Spaltbreite 0,4 nm. Die Luft-/Acetylen-Flamme wurde mit einer Zufuhr von 8 L/min Luft und 2,5 L/min Acetylen versorgt. Die Brennerposition wurde optimiert.

Für die Kalibrierung im linearen Bereich wurden Standardlösungen mit den Konzentrationen 100, 500 und 900 µg/L Natrium in 100 mL-Plastikerlenmeyerkolben aus einer Stammlösung (1000 ppm Spectrosol Standardnatriumlösung; BDH Chemicals) und 0,1 M HNO₃ (Suprapur, Merck) hergestellt.

Von jeder verdünnten Probe wurden 3 Messungen durchgeführt und deren Mittelwert notiert.

IV.2.3.3.6 Bestimmung der Calciumkonzentration in der Hämolymphe

Die jeweilige Probe wurde bei Raumtemperatur aufgetaut. Da nicht genügend Probenmaterial für eine Calciumkonzentrationsbestimmung pro Individuum vorhanden war, mussten die Proben z.T. gepoolt werden, um die benötigten 2 µL-Aliquots zu bekommen. Die Hämolymphe wurde mit Hilfe der Mikropipettiereinrichtung aus den Aufbewahrungskapillaren entnommen. Jedes Aliquot wurde 1:500 zu einem Endvolumen von 1 mL in einem 1,5 mL-Eppendorfgefäß (Merck) verdünnt. Die Verdünnungslösung bestand aus 0,1 M HNO₃ (Suprapur, Merck), die mit 0,1 % KCl (p.A., Merck) zur Kontrolle von Ionisationsinterferenzen und 0,1 % Lanthanum (III)-nitratsexahydrat (99%) (Acros Organics) zur Unterdrückung von chemischen Inter-

ferenzen versetzt war. Alle verdünnten Proben wurden über Nacht zur gleichmäßigen Verteilung der Probe innerhalb der Verdünnung in einem 5 °C-Kühlraum aufbewahrt.

Die Bestimmung der Calciumkonzentration erfolgte mit demselben AAS wie für die Natriumkonzentrationsbestimmung. Als Lichtquelle wurde eine Ca/Mg-Hohlkathodenlampe (Stromstärke 10 mA) verwendet. Die Wellenlänge betrug 422,7 nm, die Spaltbreite 0,7 nm. Die Luft-/Acetylen-Flamme wurde mit einer Zufuhr von 8 L/min Luft und 2,5 L/min Acetylen versorgt. Die Brennerposition wurde ebenfalls optimiert.

Für die Kalibrierung im linearen Bereich wurden Standardlösungen mit den Konzentrationen 1, 2 und 4 mg/L Calcium in 100 mL-Plastikerlenmeyerkolben aus einer Stammlösung (Spectrosol Standard-Calciumcitratlösung mit 1g/L Calcium; BDH Chemicals) und 0,1 M HNO₃ (Suprapur, Merck) mit den oben erwähnten Zusätzen hergestellt.

Von jeder verdünnten Hämolympheprobe wurden 3 Messungen durchgeführt und deren Mittelwert notiert.

Zum Nachweis von Calcium im weißen Niederschlag (s. Kap. IV.3.2.5): Von der Probe eines Tieres mit milchig-blauer Hämolymphe wurde nach Auftauen bei Raumtemperatur der Teil der Kapillare, der den weißen Niederschlag enthielt, abgetrennt. Dieses Kapillarstück mit ca. 1 µL Pellet wurde in 1 mL 14,5 M HNO₃ (Suprapur, Merck) in einem 1,5 mL-Eppendorfgefäß im Wasserbad bei 45 ° C gelöst. 690 µL dieser Lösung wurden in 100 mL destilliertem Wasser plus 0,1 % KCl (p.A., Merck) und 0,1 % Lanthanum (III)-nitrat hexahydrat (99%) (Acros Organics) in einem Plastikerlenmeyerkolben transferiert. Mit dieser verdünnten Probe wurden mehrere AAS-Messungen durchgeführt.

IV.2.3.3.7 Geschlechtsbestimmung bei *G. lacustris*

Die Geschlechtsbestimmung der in Ethanol fixierten Gammariden erfolgte mit Hilfe eines Binokulars (M5-96658, Wild) nach der in Kap. II.2.6.6 beschriebenen Methode anhand des Vorhandenseins von Oostegiten (Weibchen) bzw. 1 oder 2 Penispapillen (Männchen).

IV.2.4 Statistische Methoden

Für die Berechnungen wurden die Programme EXCEL '97, STATISTICA 5.0 und ToxRat Professional 2.07 (ToxRat[®] Solutions GmbH, 2002) verwendet.

LC50-Werte wurden mittels Probitanalyse kalkuliert (Litchfield & Wilcoxon, 1949; Weber, 1972). Die Prüfung auf Normalverteilung der Daten erfolgte mit Hilfe des R/s-Tests. Die Homogenität der Kovarianzen wurde durch einen Cochran-Test untersucht. Zur Bestimmung von signifikanten Unterschieden der verschiedenen Konzentrationen zur Kontrolle wurde der Williams-Multiple Sequential- t-Test (im Folgenden kurz Williams-Test genannt) herangezogen.

gen. Das Signifikanzniveau wurde mit $p < 0,05$ festgelegt. Für den statistischen Vergleich zwischen den Konzentrationen wurde eine Kruskal-Wallis-ANOVA durchgeführt. Das Signifikanzniveau wurde ebenfalls mit $p < 0,05$ festgelegt. Anschließend wurden die Ansätze paarweise mit Hilfe des Mann-Whitney U-Tests plus Bonferroni-Korrektur auf signifikante Unterschiede geprüft. Für den Vergleich zwischen der Osmolalität der normalen und der Hämolymphe mit weißem Niederschlag wurde der Mann-Whitney U-Test benutzt (Signifikanzniveau: $p < 0,05$).

IV.3 Ergebnisse und Diskussion

IV.3.1 Akute Toxizität von Bisphenol A für *G. lacustris*

G. lacustris wurde anstelle von *G. fossarum* zur Untersuchung der Osmoregulation verwendet. Daten bezüglich der Toxizität von Bisphenol A auf erstere Art fehlen. Daher wurde vor dem eigentlichen Osmoregulationsexperiment die akute Toxizität bestimmt. Als toxikologischer Endpunkt für die Letalität (96 h) diente die Immobilisation (keine Fluchtreaktion bei mechanischer Reizung). Es wurden dieselben Nominalkonzentrationen von Bisphenol A wie bei *G. fossarum* eingesetzt: 0,5; 1; 2; 4 und 8 mg/L.

Die Anzahl der immobilisierten Gammariden ist in Tab. 35 dargestellt. In der höchsten Bisphenol A-Konzentration ist eine zeitliche Abhängigkeit der Toxizität erkennbar.

Tab. 35: Anzahl der Gammariden ohne Fluchtreaktion (Immobilisation) im akuten Toxizitätstest mit Bisphenol A [mg/L]. n = 10 pro Ansatz; K: Kontrolle.

Dauer [h]	Ansatz [mg/L Bisphenol A]					
	K	0,5	1	2	4	8
Anzahl immobilisierter Tiere pro Ansatz						
24	0	0	0	0	0	1
48	0	0	0	0	0	6
72	0	0	0	0	0	7
96	0	0	0	0	1	9

Die Sauerstoffsättigung in den Ansätzen betrug am Anfang des Experiments im Mittel 103 % ($\pm 1,0$ Standardabweichung) und am Ende im Mittel 78 % ($\pm 3,8$ Standardabweichung). Der pH-Wert lag am Anfang des Experiments im Mittel bei 8,3 ($\pm 0,3$ Standardabweichung) und am Ende im Mittel bei 7,9 ($\pm 0,4$ Standardabweichung). Sauerstoffsättigung und pH waren in einem Bereich, der das Überleben von Gammariden nicht beeinträchtigt (Ökland, 1969; Vorbis, 1973; Foeckler & Schrimppf, 1985).

Aufgrund der Datenlage ist eine Berechnung der LC_{50} nur nach einer Expositionsdauer von 96 h möglich. Die LC_{50} nach 96 h betrug 5,7 mg/L Bisphenol A. Die dazugehörige Konzentrations-Wirkungs-Kurve ist in Abb. 76 dargestellt. Die Steigung der Konzentrations-Wirkungs-Kurve nach 96 h Exposition verläuft bei *G. lacustris* etwas steiler als bei *G. fossarum* (Abb. 43). Mit 5,7 mg/L (*G. lacustris*) bzw. 1,9 mg/L (*G. fossarum*) Bisphenol A liegen die LC_{50} -Werte beider Gammaridenarten jedoch in derselben Größenordnung.

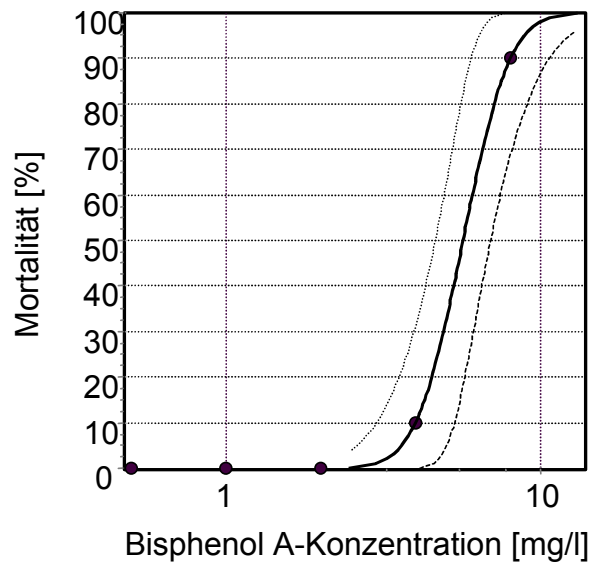


Abb. 76: Konzentrations-Wirkungs-Kurve (durchgezogene Linie) des letalen Effekts von Bisphenol A nach 96 h Exposition auf den Endpunkt Immobilisation bei adulten *G. lacustris*. Gepunktete Linien: untere und obere 95 %-Konfidenzbereichsgrenzen; p (Chi²) = 0.9782; p (F) = 0,001.

IV.3.2 Experiment zum Einfluss von Bisphenol A auf die Osmoregulation bei *G. lacustris*

IV.3.2.1 Mortalität

Nach 24 h Exposition trat in keinem Ansatz Mortalität auf. Im weiteren Verlauf des Experiments wurden nur in der höchsten Konzentration von Bisphenol A immobilisierte Tiere gefunden (Tab. 36).

Tab. 36: Mortalität (Immobilisation) von *G. lacustris* im Osmoregulationsexperiment in der höchsten Konzentration von Bisphenol A.

6,5 mg/L Bisphenol A	
Dauer [h]	Immobilisation [%]
24	0
48	40
72	80
96	90

Eine LC₅₀ konnte somit nicht berechnet werden. Da in der zweithöchsten Konzentration von 3,4 mg/L Bisphenol A keine und in der höchsten Konzentration von 6,5 mg/L Bisphenol A

90 % immobilisierte Tiere vorhanden waren, muss die LC_{50} nach 96 h zwischen diesen beiden Konzentrationen liegen. Sie entspricht damit dem im akuten Toxizitätstest berechneten Wert von 5,7 mg/L Bisphenol A. Von 8 der 9 immobilisierten Tieren war eine Hämolympheentnahme möglich, 1 Tier befand sich hingegen nach 96 h bereits im Zustand der Verwesung.

IV.3.2.2 Osmolalität in der Hämolymphe

Um Veränderungen der Osmoregulation bei *G. lacustris* durch Bisphenol A zu detektieren, wurde als Gesamtmaß die Osmolalität der Hämolymphe erfasst. Die Ergebnisse bezüglich aller untersuchten Tiere ($n = 3 - 20$) sind in Abb. 77 dargestellt. Die Osmolalität in der Hämolymphe der Kontrolltiere lag etwa im Bereich zwischen 250 und 300 mOsm/kg. Diese Werte stimmen gut mit Angaben zur Osmolalität der Hämolymphe bei *G. pulex* von etwa 280 mOsm/kg überein (Spicer et al., 1998). Die Exposition gegenüber Bisphenol A führte selbst in der höchsten Konzentration, die im letalen Bereich lag, nicht zu einem Effekt auf die Osmolalität.

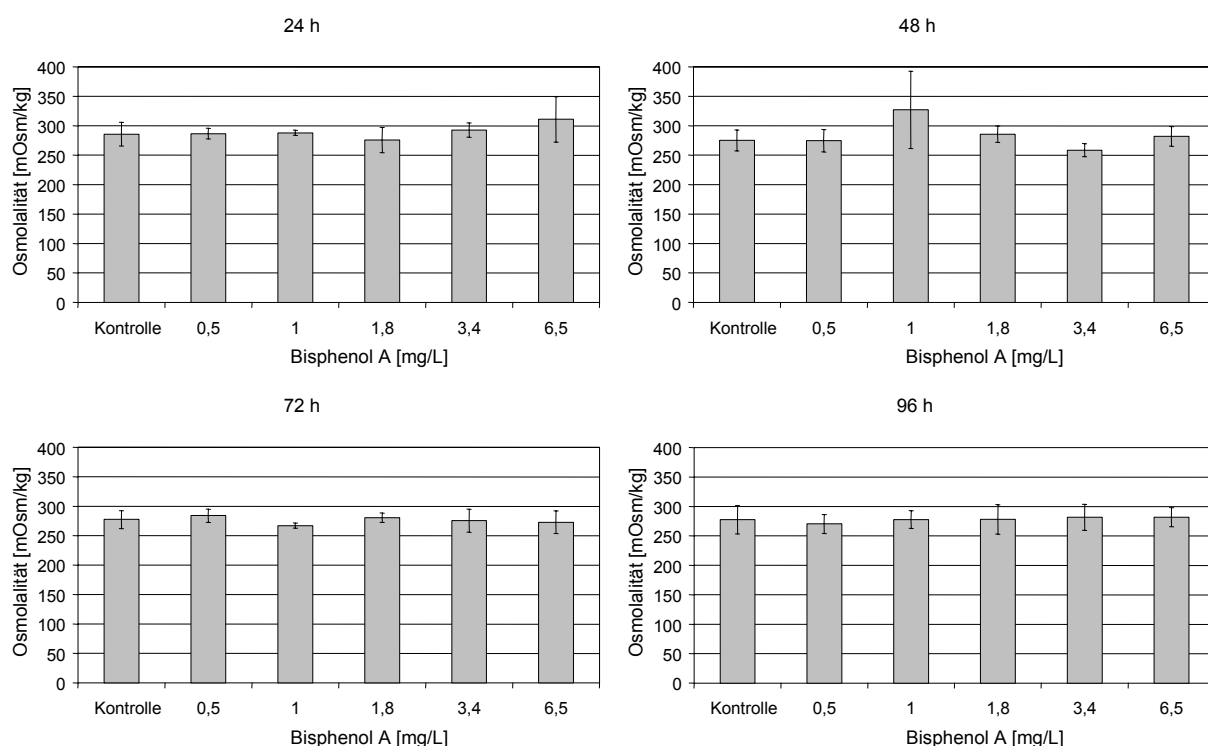


Abb. 77: Osmolalität in der Hämolymphe von *G. lacustris* bei unterschiedlicher Expositionsdauer und Konzentration von Bisphenol A. Dargestellt sind der arithmetische Mittelwert \pm Standardabweichung.

Auch im zeitlichen Verlauf des Experiments wurden keine Veränderungen beobachtet (Abb. 78). Die Werte der exponierten Tiere streuten um die Kontrollwerte und entsprachen sicherlich der natürlichen Variabilität.

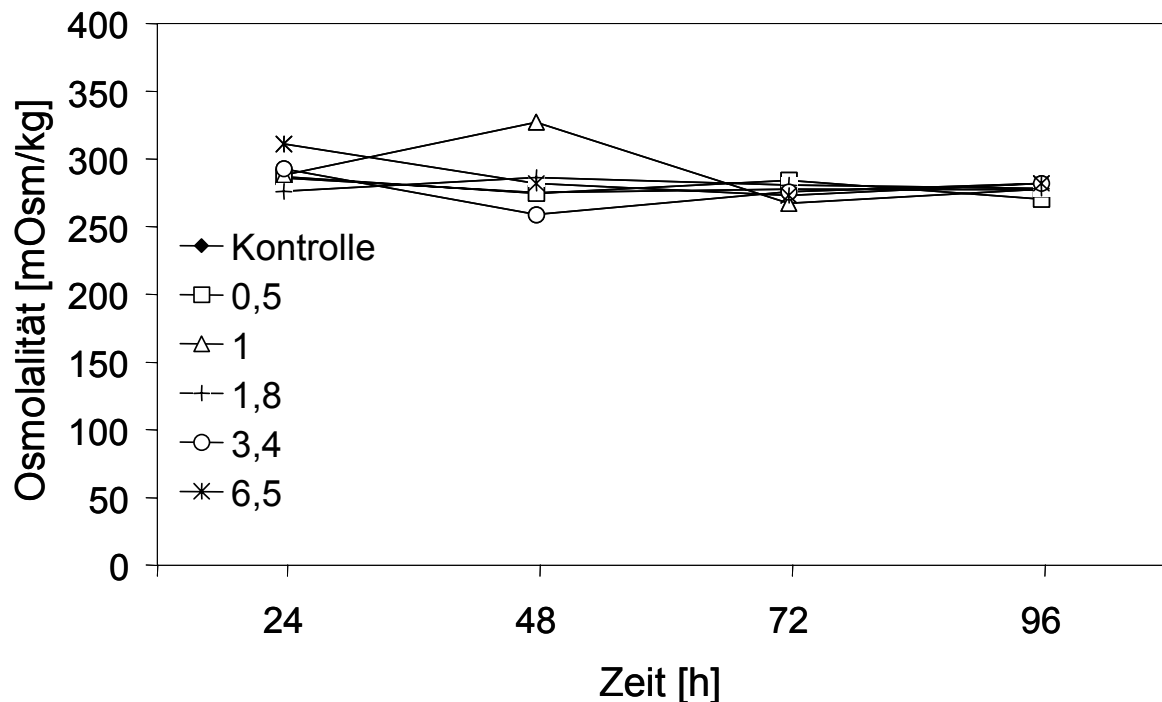


Abb. 78: Zeitlicher Verlauf der Osmolalität in der Hämolymphe von *G. lacustris* bei Exposition gegenüber Bisphenol A. Dargestellt sind die arithmetischen Mittelwerte.

Betrachtet man die Osmolalität aufgeteilt nach den Geschlechtern, wie in Abb. 79 dargestellt, so ist auch hierbei kein Einfluss von Bisphenol A zu erkennen. Eine Aufteilung der Daten zu den beiden Geschlechtern erfolgte nur für die Expositionsdauer 96 h sowie für die Kontrollen und Tiere in der höchsten Konzentration nach 24 h bis 72 h Exposition. Einschränkend für eine allgemeingültige Aussage bezüglich des Einflusses von Bisphenol A auf die unterschiedlichen Geschlechter ist zu beachten, dass es sich bei den Weibchen aufgrund der typischen Reproduktionspause dieser Art zum Zeitpunkt des Experiments nur um nicht brütende Exemplare handelte. Die Reproduktion findet bei *G. lacustris* im Frühjahr oder Sommer statt (Ökland, 1969; DeMarch, 1982). Der physiologische Status und die Beeinflussbarkeit durch Bisphenol A könnte daher zwischen Weibchen und Männchen sehr ähnlich gewesen sein.

Intersexe wurden im Experiment nicht gefunden, wurden aber zu einem geringen Prozentanteil in der Population im Freiland nachgewiesen (0,8 % Intersexanteil; eigene Untersuchungen einer Probe von $n = 261$ am 11.10.2003). Intersexe bei *G. lacustris* wurden in Norwegen von Ökland (1969) in 2 von 82 untersuchten Gewässern gefunden. Eigene Untersuchungen der Autorin dieser beiden einzigen Proben, die Intersexe enthielten, ergaben einen Intersexanteil von 8,3 % und 12,9 %. Mehli (1973) ermittelte in einem See, der dem Probenahmegewässer der hier verwendeten Gammariden benachbart ist, in der dortigen Population von *G. lacustris* einen Intersexanteil bis zu 12,2 % (Median = 5,5 %).

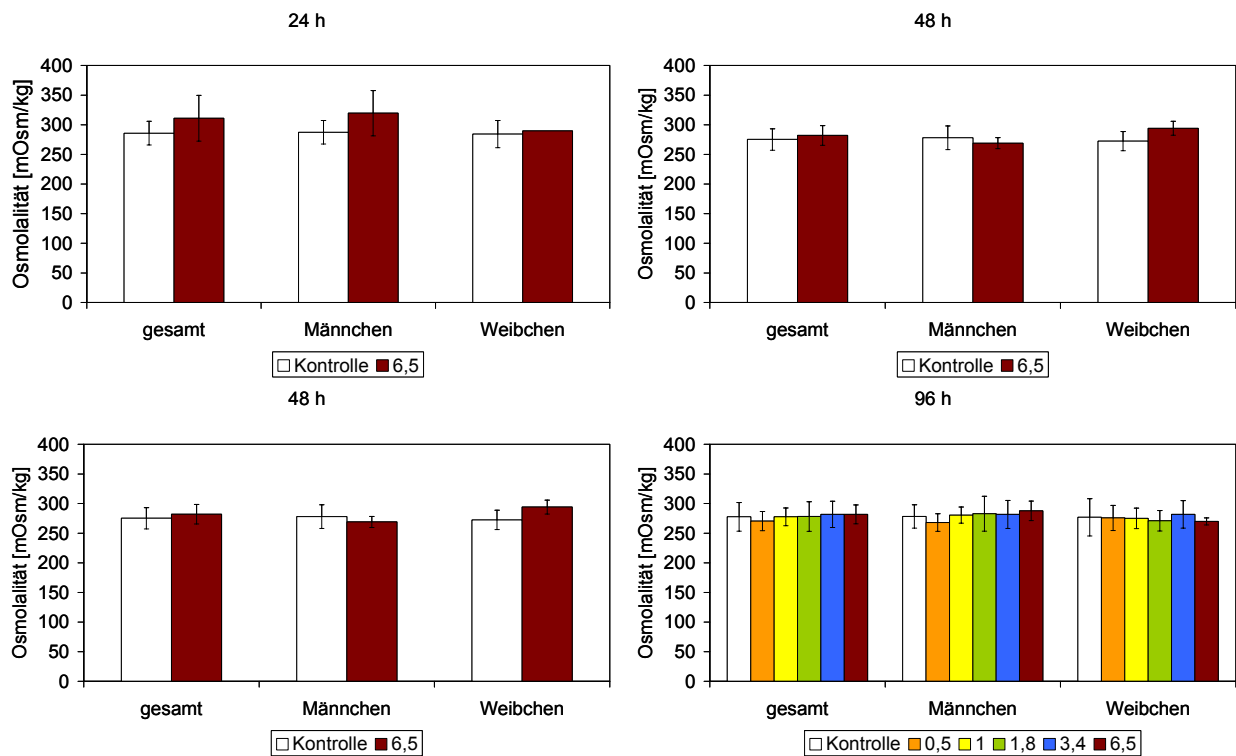


Abb. 79: Osmolalität in der Hämolymphe gesamt und in den unterschiedlichen Geschlechtern von *G. lacustris* bei unterschiedlicher Expositionsdauer gegenüber Bisphenol A. Dargestellt sind der arithmetische Mittelwert \pm Standardabweichung.

Aufgrund der Ergebnisse bezüglich des Endpunkts Osmolalität ließe sich vermuten, dass Bisphenol A keinen Einfluss auf die Osmoregulation bei *G. lacustris* hat, obwohl die Tiere zumindest in der höchsten Konzentration ab 48 h Expositionsdauer deutlich geschädigt waren (Immobilisation). Jedoch wird mit der Osmolalität nur ein Gesamtmaß für Veränderungen der Osmoregulation betrachtet. So könnte z.B. der Ausstrom eines gelösten Stoffes aus der Hämolymphe durch den gleichzeitigen Einstrom anderer Ionen aus dem umgebenden Medium oder aus den Zellen in die Hämolymphe in einer unveränderten Osmolalität resultieren. Deshalb wurde zusätzlich die Konzentration ausgewählter osmotisch aktiver Stoffe in der Hämolymphe untersucht.

IV.3.2.3 Konzentration von Natrium in der Hämolymphe

Natriumchlorid ist der wichtigste in der Hämolymphe gelöste Stoff (Florey, 1975) und trägt etwa zu 90 % zur Osmolalität in der Hämolymphe von Crustaceen bei (Lignot et al., 2000). Normalerweise ist folglich die Natriumkonzentration in der Hämolymphe direkt proportional zur Osmolalität. Diese Beziehung wurde auch in der vorliegenden Studie beobachtet. Die Regressionsanalyse in Abb. 80 über alle Proben zeigt einen - wenngleich sehr schwachen -

positiven Zusammenhang zwischen den beiden Variablen. Vermutlich wegen der hohen Anzahl an Daten ($n = 142$) war die Korrelationsberechnung nach Spearman signifikant ($p = 0,01$).

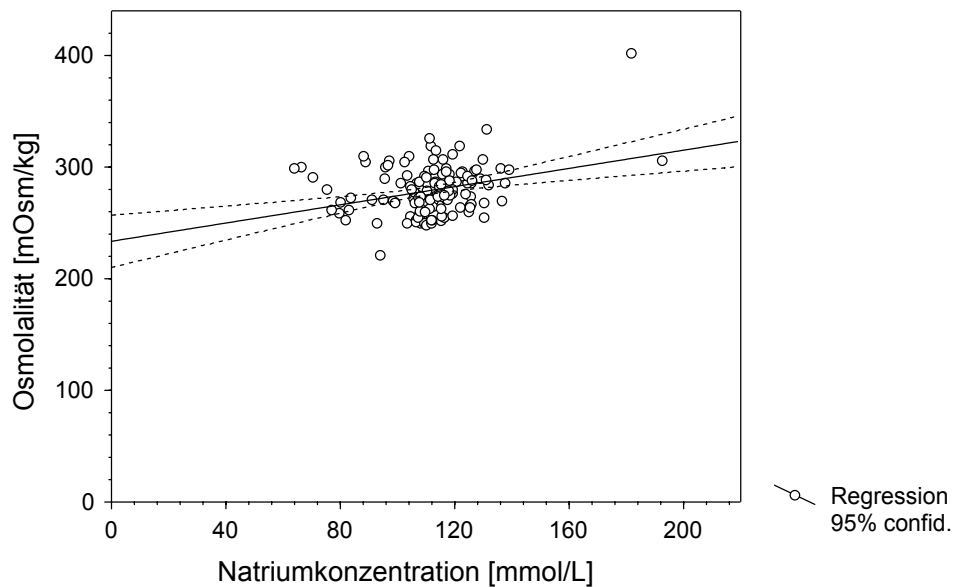


Abb. 80: Korrelation zwischen Natriumkonzentration und Osmolalität in allen Hämolympfproben von *G. lacustris*. $n = 142$; Spearman-Korrelationkoeffizient $R = 0,216$; $p = 0,01$.

Die Korrelationsberechnung lieferte auch unter Ausschluss des weit von der Regressionsgeraden und ihren 95 %-Konfidenzintervallen entfernt liegenden Wertes (Na^+ -Konz. = 182 mM/ Osmolalität = 402 mOsm/kg) ein signifikantes Ergebnis. Die Signifikanz kam also nicht nur durch diesen einen Wert zustande.

Abb. 81 zeigt die Natriumkonzentration in der Hämolymphe gegenüber Bisphenol A exponierter Gammariden zu den unterschiedlichen Probenahmezeitpunkten. Die mittleren Natriumkonzentrationen der Kontrollen lagen zwischen 98 und 116 mM/L. Für *G. pulex* werden ähnliche Werte zwischen 99 und 102 mM/L Na^+ von Spicer et al. (1998) und 106 mM/L Na^+ von Sutcliffe (1971) genannt. Brooks & Mills (2003) berichteten hingegen von einer Natriumkonzentration von ca. 170 mM/L für *G. pulex*. Eine Konzentrations-Wirkungs-Beziehung lag nicht vor. Jedoch wurde mit Ausnahme des Expositionszeitpunktes nach 72 h die höchste Natriumkonzentration in der höchsten Bisphenol A-Konzentration gemessen. Nach 72 h wurde im Williams-Test eine signifikante Erniedrigung in den Konzentrationen 0,5; 1 und 1,8 mg/L Bisphenol A festgestellt. Die beiden höchsten Konzentrationen waren jedoch hinsichtlich des Endpunkts Natriumkonzentration in der Hämolymphe nicht signifikant verschieden zur Kontrolle. Nach 96 h waren im Williams-Test die Natriumkonzentrationen aller Bisphenol A-Ansätze höher verglichen zur Kontrolle.

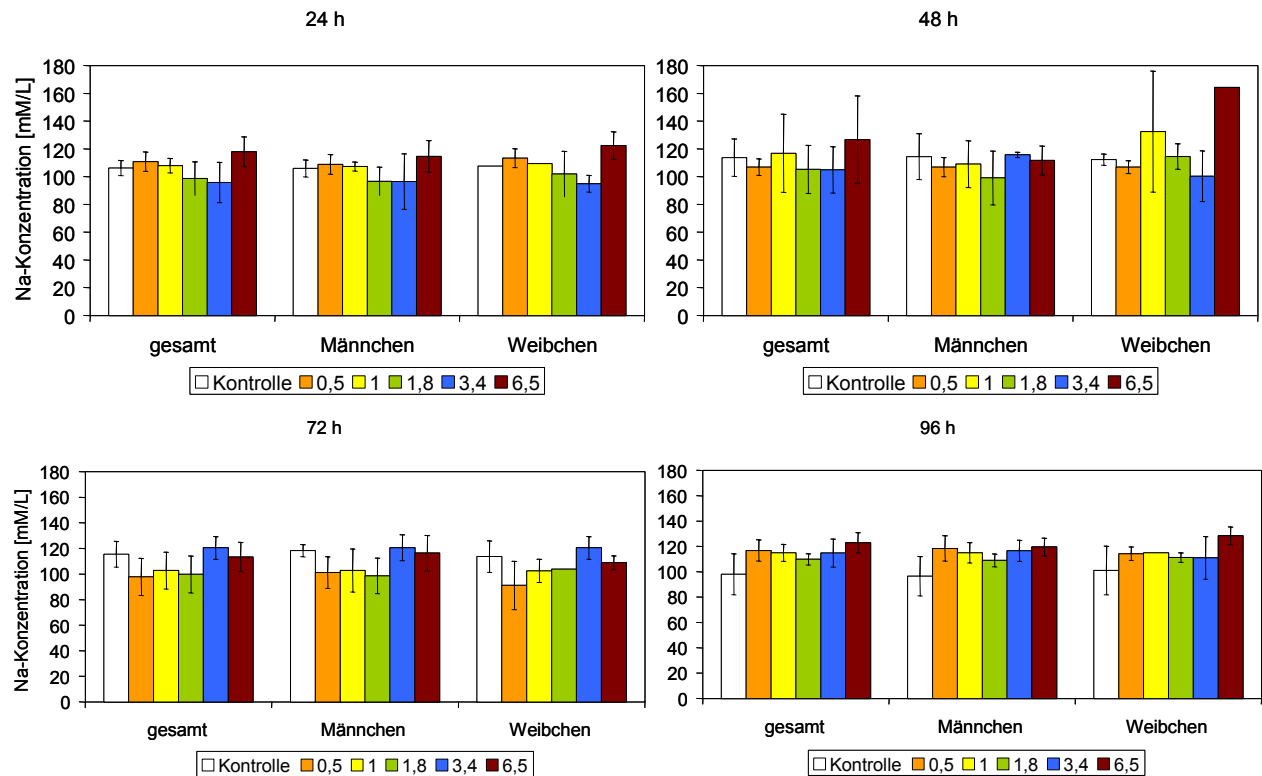


Abb. 81: Konzentration von Natrium in der Hämolymphe gesamt sowie in den unterschiedlichen Geschlechtern von *G. lacustris* bei unterschiedlicher Expositionsdauer und Konzentration von Bisphenol A. Dargestellt sind der arithmetische Mittelwert \pm Standardabweichung.

Die Verwendung des Williams-Tests ist zumindest bei den Ergebnissen nach 96 h mit Vorsicht zu betrachten, da die Werte der Kontrolle nach 96 h aus unbekanntem Grund gegenüber den vorangegangenen Kontrollwerten leicht erniedrigt waren (Abb. 82). Daher wurde jeweils mit den Ergebnissen aus den verschiedenen Expositionzeiten eine Kruskal-Wallis-ANOVA durchgeführt. Bei Signifikanz dieser ANOVA (nach 24 h, 72 h, 96 h) wurden jeweils alle Konzentrationen mit Hilfe des Mann-Whitney U-Tests mit Bonferroni-Korrektur paarweise miteinander verglichen. Durch diese Korrektur wurde das Signifikanzniveau auf $p < 0,0033$ verändert. Nach 72 h Exposition wurde ein signifikanter Unterschied nur zwischen den Ansätzen 0,5 und 3,4 mg/L Bisphenol A gefunden ($p = 0,0031$). Verglichen mit der Kontrolle zeigten die Ansätze mit Bisphenol A jedoch in diesem nichtparametrischen Test keinen signifikanten Unterschied. Die einzigen - äußerst schwach - signifikanten Unterschiede nach 96 h Exposition lagen zwischen der Kontrolle und 0,5 mg/L Bisphenol A ($p = 0,0032$) bzw. zwischen 1,8 mg/L und 6,5 mg/L Bisphenol A ($p = 0,00328$) vor. Die erhöhten Natriumkonzentrationen bei 6,5 mg/L Bisphenol A traten vor allem bei den Weibchen auf. Die Weibchen trugen damit über alle Tiere betrachtet tendenziell stärker als die Männchen zur Erhöhung der Natriumkonzentration bei (Abb. 81).

Der zeitliche Verlauf der Konzentration von Natrium in der Hämolymphe zeigte keinen Einfluss von Bisphenol A (Abb. 82).

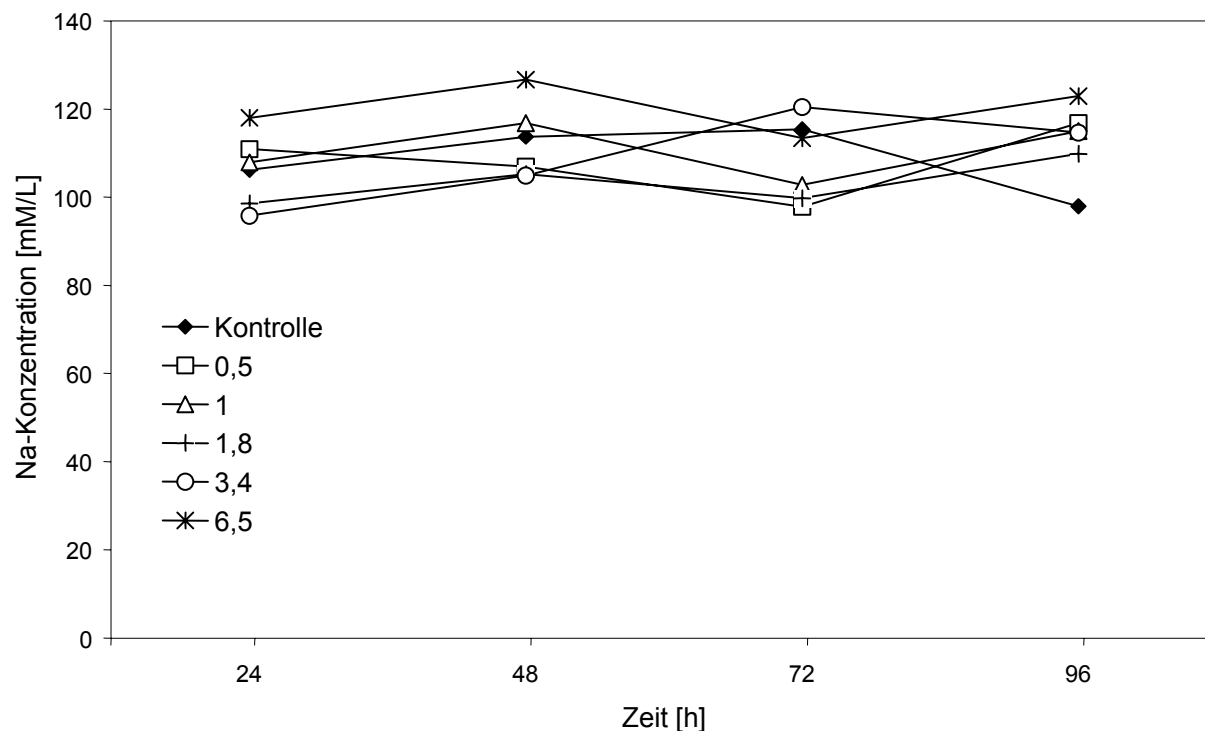


Abb. 82: Zeitlicher Verlauf der Natriumkonzentration in der Hämolymphe von *G. lacustris* bei Exposition gegenüber Bisphenol A. Dargestellt sind die arithmetischen Mittelwerte.

Falls die erhöhte Natriumkonzentration in der höchsten Bisphenol A-Konzentration nicht durch die natürliche Variabilität, sondern durch den Einfluss von Bisphenol A zustande kam, könnte Bisphenol A einen ähnlichen Effekt auf diesen Endpunkt wie 4-Chlorphenol besitzen. Oksama & Kristoffersson (1980) zeigten bei *Mesidotea entomon* (Isopoda) einen vorübergehenden Anstieg der Natriumkonzentration in der Hämolymphe im Bereich der LC_{50} von 4-Chlorphenol. Bei weiterer Konzentrationserhöhung der Chemikalie fand ein starker Rückgang der Natriumkonzentration bei den noch Überlebenden statt. Der (vorübergehende) Anstieg der Natriumkonzentration könnte durch einen selektiven Effekt des toxischen Stoffes auf bestimmte Gewebe oder Organe bedingt sein (Inman & Lockwood, 1977; Oksama & Kristoffersson, 1980). Beispielsweise führte Endrin durch eine Störung der Leberfunktion in Fischen zum Ausströmen von Natrium aus dem Lebergewebe (Eisler & Edmunds, 1966). Der genaue Wirkmechanismus ist jedoch unbekannt. Ein anderer möglicher, von Lignot et al. (2000) vorgeschlagener, Mechanismus für eine Erhöhung der Natriumkonzentration in der Hämolymphe wäre die Aktivierung der Ionenaufnahme aus dem umgebenden Medium als erste, kompensatorische Reaktion des Organismus auf die Chemikalie. Eine starke Reduktion von Natrium in der Hämolymphe fand nicht statt. Daher kann eine Hemmung der $Na^+/-K^+$ -

ATPase, wie sie beispielsweise durch Kupfer (Brooks & Mills., 2003) und *p,p'*-DDT (Jowett et al., 1981) bei Crustaceen ausgelöst wird, für das vorliegende Experiment vermutlich ausgeschlossen werden.

Die Osmolalität wurde von Oksama & Kristoffersson (1980) nicht gemessen. Die gleichbleibende Osmolalität unter dem Einfluss von Bisphenol A bei gleichzeitiger Erhöhung der Natriumkonzentration in der Hämolymphe könnte durch den Ausstrom von freien Aminosäuren ausgeglichen werden (Oksama & Kristoffersson, 1980). Eine weitere Möglichkeit zur Erhaltung der gleichbleibenden Osmolalität bestünde darin, dass zumindest ein Teil des überschüssigen Natriums in einem osmotisch inaktiven Zustand in der Hämolymphe vorliegen könnte (Saxena et al., 2000).

IV.3.2.4 Konzentration von Calcium in der Hämolymphe

Die Konzentrationen von Calcium in der Hämolymphe von *G. lacustris* nach Exposition gegenüber Bisphenol A gibt Abb. 83 wieder.

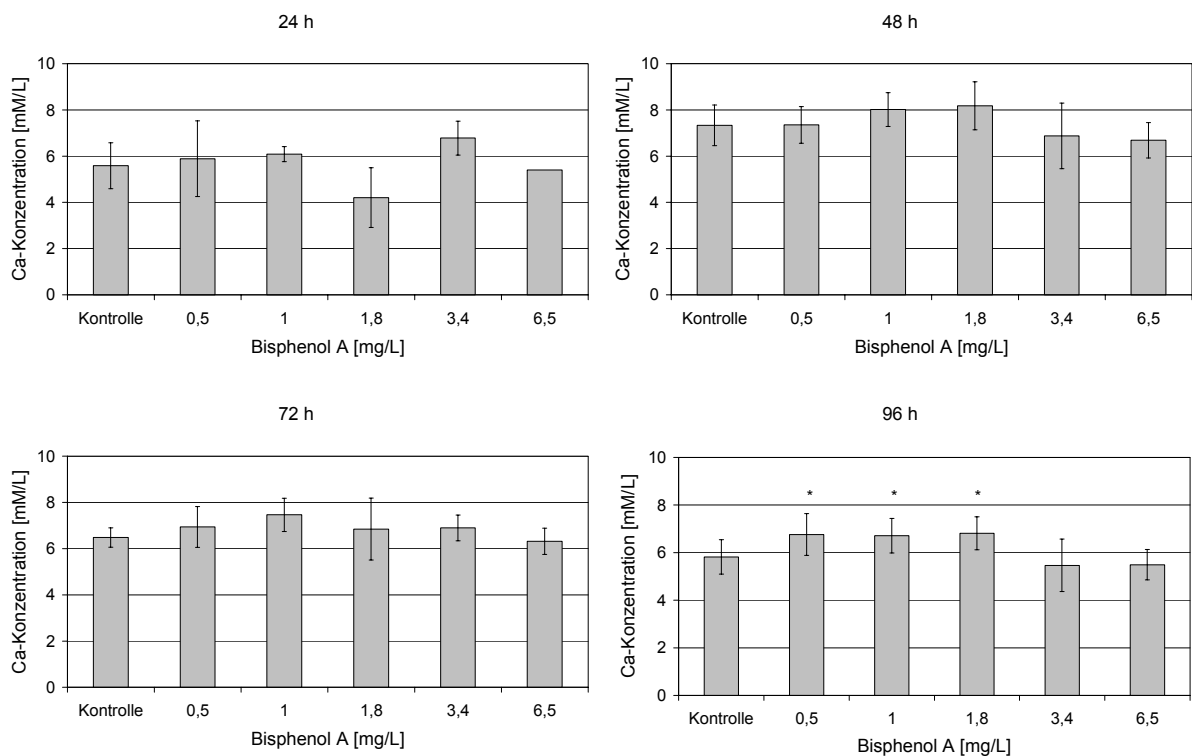


Abb. 83: Konzentration von Calcium in der Hämolymphe von *G. lacustris* bei unterschiedlicher Expositionsdauer und Konzentration von Bisphenol A. Dargestellt sind der arithmetische Mittelwert \pm Standardabweichung. *: signifikanter Unterschied zur Kontrolle mit $p < 0,05$ (Williams-Test).

In den Kontrollen wurde eine mittlere Konzentration von 6 bis 7 mM/L Calcium gemessen. Diese Werte liegen in derselben Größenordnung wie der von Wright (1980) angegebene Wert von 10,5 mM/L Calcium in der Hämolymphe von *G. pulex* im Zwischenhäutungsstadium. Es bestand über alle Proben von Individuen betrachtet keine Korrelation zwischen der Calciumkonzentration und der Natriumkonzentration bzw. zwischen ersterer und der Osmolalität.

Eine Konzentrations-Wirkungs-Beziehung lag nicht vor. Stattdessen nahm die Calciumkonzentration mit steigender Bisphenol A-Konzentration erst zu und dann bei einem weiteren Anstieg der Konzentration wieder ab. Diese Tendenz war nach 96 h signifikant (Abb. 83). Ein signifikanter Unterschied gegenüber der Kontrolle trat bereits ab der niedrigsten Bisphenol A-Konzentration (0,5 mg/L) auf. Zusätzlich ist tendenziell in Abb. 83 im Verlauf des Experiments eine Verschiebung des Calciumkonzentrationsmaximums von den höheren Konzentrationen hin zu den niedrigeren Bisphenol A-Konzentrationen zu erkennen.

Sowohl bei der Kontrolle als auch in den Ansätzen mit Bisphenol A (Ausnahme: 3,4 mg/L) wurde die maximale Calciumkonzentration nach 48 h gemessen (Abb. 84). Ein Einfluss der Expositionsdauer gegenüber Bisphenol A auf den zeitlichen Verlauf der Calciumkonzentration in der Hämolymphe exponierter Gammariden wurde nicht nachgewiesen. Eine mögliche Abhängigkeit des Einflusses von Bisphenol A von der Expositionsdauer könnte durch eine Akklimatisationsphase der Tiere an die Testbedingungen überlagert worden sein.

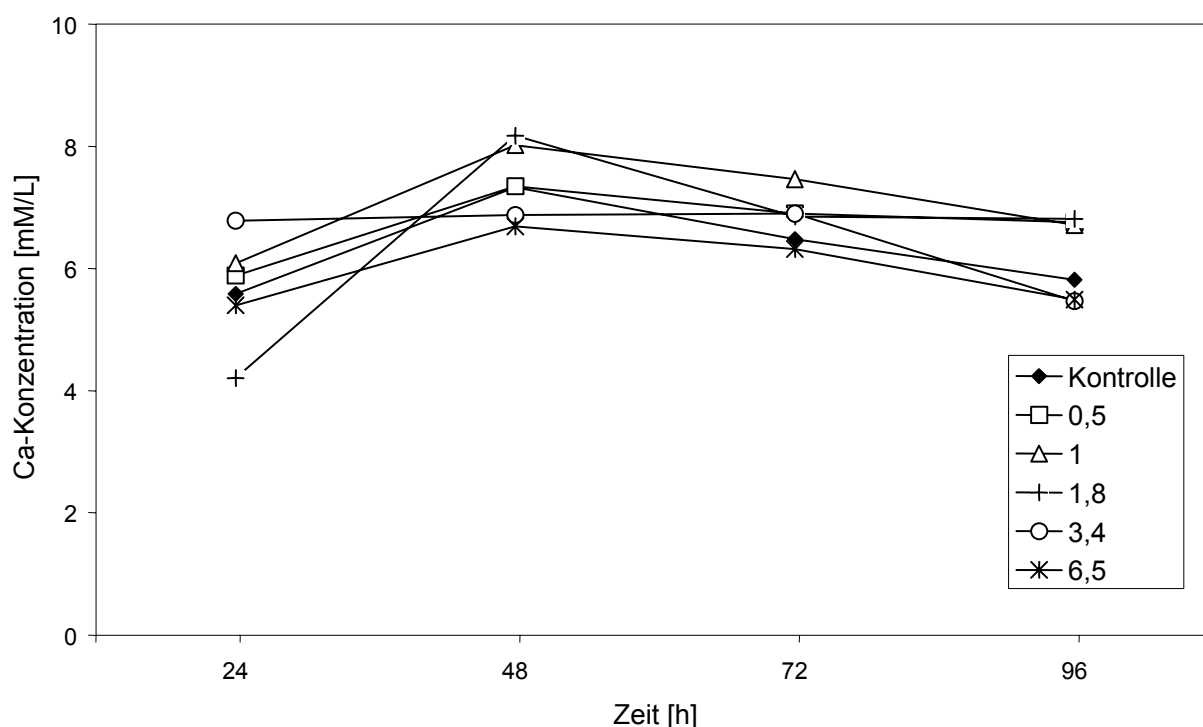


Abb. 84: Zeitlicher Verlauf der Calciumkonzentration in der Hämolymphe von *G. lacustris* bei Exposition gegenüber Bisphenol A. Dargestellt sind die arithmetischen Mittelwerte.

Suzuki et al. (2003) exponierten Goldfische in 10^{-6} M Bisphenol A, d.h. in umgerechnet etwa 230 µg/L Bisphenol A. Nach 4 Tagen stieg die Calciumkonzentration im Plasma der Fische signifikant an, worauf bei weiterer Exposition bis zu 8 Tagen eine signifikante Erniedrigung der Calciumkonzentration erfolgte. Gleichzeitig wurde von ihnen die Calcitoninkonzentration im Plasma gemessen. Die Calcitoninsekretion wird bei Teleosteen durch Östrogen induziert. Calcitonin führt normalerweise zu einer Erhöhung der Plasma-Calciumkonzentration und scheint außerdem eine Rolle bei der sexuellen Reifung bei Fischen zu spielen. Calcitonin-ähnliche Peptide wurden mit dem Calciummetabolismus in Crustaceen in Zusammenhang gebracht, auch wenn deren Wirkmechanismus noch unbekannt ist (Meyran et al., 1993; Wheatly, 1996). Kürzlich wurde der erste Calcitonin-Rezeptor bei Invertebraten identifiziert (Dubos et al., 2003). Bisphenol A, das als östrogenes Xenohormon bei Vertebraten gilt, führte nicht zu einer erhöhten Sekretion von Calcitonin nach 4 Tagen, aber zu einer Erniedrigung des Calcitonins im Plasma der Fische nach 8 Tagen (Suzuki et al., 2003). Für die Schwankungen der Calciumkonzentration in Fischplasma bzw. Hämolymphe bei *G. lacustris* durch Bisphenol A könnte folglich auch ein rezeptorunabhängiger Mechanismus verantwortlich sein. Kirk et al. (2003) untersuchten die Ca^{2+} -ATPase-Aktivität in Fischmuskulatur. Die Aktivität dieses Enzyms wurde durch Bisphenol A gehemmt. Die IC_{50} (die Konzentration, bei der eine 50%-ige Inhibition vorliegt) betrug 37 µM Bisphenol A. Dies entspricht etwa 8,45 mg/L Bisphenol A. Bei *G. lacustris* lag die Calciumkonzentration in der Hämolymphe auch in der höchsten Konzentration von Bisphenol A (6,5 mg/L) nach 96 h Exposition kaum niedriger als in der Kontrolle. Die Ca^{2+} -ATPase-Aktivität wurde demnach nicht deutlich gehemmt. Vermutlich lagen daher keine hohen intrazellulären Konzentrationen von Ca^{2+} vor, die zu Apoptosis führen (Kirk et al., 2003). Eine Veränderung der Calciumkonzentration war folglich wahrscheinlich nicht für die Immobilisation und den Tod der Gammariden verantwortlich. Neben der Ca^{2+} -ATPase sorgt ein Natrium-Calcium-Antiportsystem für die Calcium-Homöostase im Organismus (Børseth et al., 1995). Durch diesen Antiport wird Na^{+} nach innen und Ca^{2+} aus den Zellen nach außen befördert. Bei hohen Bisphenol A-Konzentrationen wurde im vorliegenden Versuch tendenziell eine Abnahme des Hämolymphe-Calciums und eine Zunahme des Hämolymphe-Natriums beobachtet. Folglich könnte eine Schädigung des Natrium-Calcium-Antiportsystems durch hohe Bisphenol A-Konzentrationen vorliegen. Aufschluss über eine direkte, rezeptorunabhängige Wirkung von Bisphenol A auf die Calciumregulation könnten Messungen der Aktivität dieser Transportmechanismen an isolierten Kiemen von *G. lacustris* liefern.

IV.3.2.5 Hämolympheproben mit weißem Niederschlag nach der Zentrifugation

Bei 10 der 279 untersuchten Gammariden war die normalerweise blaue Hämolymphe bereits bei der Entnahme aus dem Tier milchig-blau gefärbt. Nach der Zentrifugation der Hämolymphe trat ein weißer Niederschlag auf. Da dieses Phänomen sowohl bei einigen Kontrolltieren als auch in verschiedenen Bisphenol A-Konzentrationen vorhanden war, wird ein Einfluss von Bisphenol A ausgeschlossen. Die Osmolalität von Hämolymphe mit weißem Pellet (Median = 254 mOsm/kg) war signifikant geringer im Vergleich zur normalen Hämolymphe (Median = 279 mOsm/kg), betrachtet über alle Proben (Mann-Whitney U-Test, $p = 0,0098$). Sie lag jedoch innerhalb der Spannbreite der Osmolalität der normalen Hämolymphe (Abb. 85). Ein Unterschied zwischen dem Überstand der milchig-blauen Hämolymphe und normaler Hämolymphe bezüglich der Natriumkonzentration wurde dagegen nicht nachgewiesen.

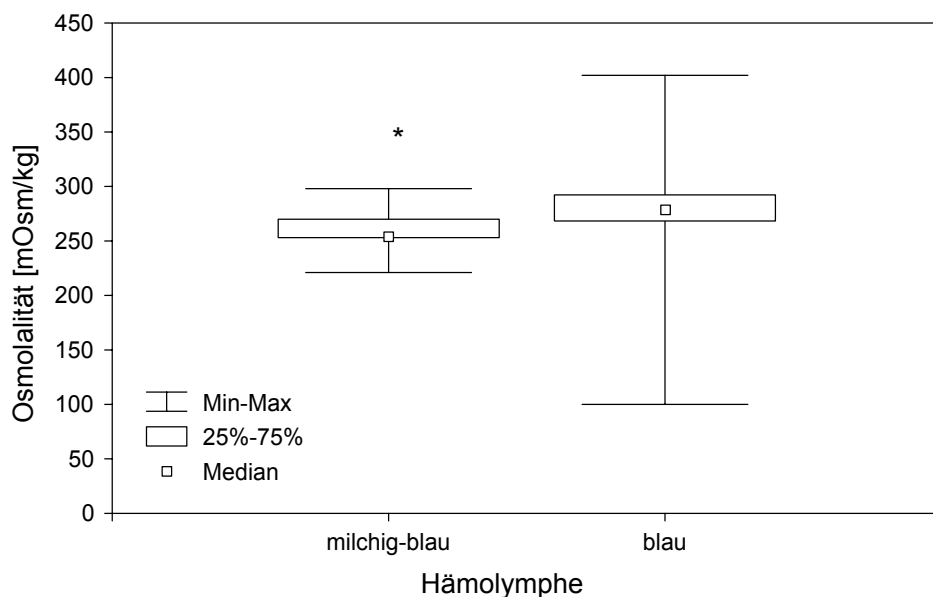


Abb. 85: Osmolalität in milchig-blauer und blauer (normaler) Hämolymphe von *G. lacustris*, betrachtet über alle Proben. *: signifikanter Unterschied mit $p < 0,05$.

Die Analyse des weißen Niederschlags einer Probe mit dem Nachweis von Calcium als Ziel ergab eine relativ hohe Calciumkonzentration von ungefähr 140 mM/L. Dieses Ergebnis ist als semiquantitativ zu betrachten, da mit der Methode die genaue Menge des Pellets nicht bestimmt werden konnte und es sich um eine Einzelanalyse handelte. Im Gegensatz zur Calciumkonzentration im weißen Pellet entsprach die Konzentration des in der Hämolymphe

gelösten Calciums dieser Proben (5,3 - 6,7 mM/L) der niedrigen Calciumkonzentration in den anderen Hämolympfproben.

Dieses Phänomen (milchiges Aussehen der Hämolymphe) wurde bisher nicht für Amphipoden publiziert. Es wurde einzig bei den Krabben *Sesarma dehaani* (Numanoi, 1939), *Holthuisana transversa*, *H. agassizi* und *H. valentula* (Sparkes & Greenaway, 1984) und *Ocypode cordimana* (Greenaway, 1993) beschrieben. Diese Crustaceenarten benutzen offensichtlich die Hämolymphe als Speicherort für Calcium im Stadium direkt vor der Häutung („premolt stage“) (Sparkes & Greenaway, 1984; Greenaway, 1985). In „intermolt“-Tieren (im Zwischenhäutungsstadium) trat das Phänomen nicht auf. Sparkes & Greenaway (1984) untersuchten das sich bei Zentrifugation bildende Pellet näher. Es handelte sich dabei um winzige, kugelige Gebilde („microspherules“). Diese Gebilde bestanden vor allem aus Calciumcarbonat, sowie zusätzlich aus Calciumphosphat und entsprechenden Magnesiumverbindungen.

Bei der vorliegenden Studie wurde versucht, nur Tiere im Zwischenhäutungsstadium für das Osmoregulationsexperiment zu benutzen. Die Tiere wurden dabei mit bloßem Auge ausgewählt, wie beispielsweise von Aarset & Aunaas (1987) beschrieben. Im Verlauf der Exposition erfolgte jedoch bei ein paar Exemplaren eine Häutung, wie anhand des Vorhandenseins einer Exuvie beobachtet werden konnte. Das makroskopische Aussehen von Gammariden ist demnach eine mit Unsicherheit behaftete Methode, das Häutungsstadium (insbesondere den Unterschied zwischen „intermolt“ und „premolt stage“) festzustellen (Martin, 1965; Wright, 1980; Graf, 1986). Die Daten wurden dahingehend betrachtet, ob die Ergebnisse dieser Tiere Anlass zu falschen Schlussfolgerungen bezüglich des Einflusses von Bisphenol A auf die untersuchten Endpunkte bieten könnten. Dies war nicht der Fall, daher wurden die Daten dieser Tiere in die Auswertung einbezogen. Bei diesen Tieren („postmolt stage“) trat keine milchig-blaue Hämolymphe auf.

Das „intermolt stage“ nimmt einen wesentlich größeren Teil des Häutungszyklus bei Crustaceen als das „premolt stage“ ein (z.B. Graf, 1986). Im Experiment überwogen Gammariden mit normaler Hämolymphe, daher könnte es sich bei den Exemplaren mit milchig-blauer Hämolymphe um „premolt stage“-Tiere handeln. Falls dies zutrifft, entspräche das bei *G. lacustris* beobachtete Phänomen dem insbesondere von Sparkes & Greenaway (1984) beschriebenen bei Krabben.

Bei *G. lacustris* könnte demnach ebenfalls die Hämolymphe eine Speicherfunktion für Calcium besitzen. Das Calcium wurde vermutlich aus dem alten Carapax resorbiert und wird für die Calcifikation des neuen Carapax nach der Häutung gebraucht (Greenaway, 1985). Für andere Amphipodenarten, vor allem die terrestrischen *Orchestia cavimana*, ist bekannt, dass als Speicherorgan die Mitteldarmcaeca dienen (Graf & Michaut, 1977; Greenaway, 1985). Bei *Gammarus pulex* ist dagegen die Speicherung von Calcium vernachlässigbar gering (Graf, 1964; Greenaway, 1985). Innerhalb der Gattung wurden allerdings Unterschiede fest-

gestellt: Als Spezies in relativ hartem Wasser benötigt *G. pulex* keinen Calciumspeicher, wohingegen *G. balcanicus* als Weichwasser-Gammaridenspezies eine größere Menge an Calcium speichert (Greenaway, 1985). *G. lacustris* lebt in Norwegen in Wasser mit einer geringen Härte (Ökland & Ökland, 1985), so dass für diese Gammariden eine größere Speicherung von Calcium eine sinnvolle Adaptation darstellen könnte. Ob *G. lacustris* (zusätzlich) Mitteldarmcaeca für die Calciumspeicherung verwendet, ist unbekannt. Darüber könnten morphologische Studien Aufschluss geben. Ebenso könnten entweder durch sorgfältige Beobachtung des Häutungszyklus oder durch die Verwendung von Präkopula-Weibchen gezielt „premolt stage“-Tiere hinsichtlich ihrer Hämolymphe analysiert werden. So könnte eventuell eine größere Probenmenge für detaillierte Analysen der Zusammensetzung des weißen Pellets gewonnen werden. Ebenso sollte überprüft werden, ob eine Stoffwechselstörung oder andere Krankheit für dieses Phänomen verantwortlich ist.

IV.4 Abschließende Betrachtung der Untersuchungen zum Einfluss von Bisphenol A auf die Osmoregulation bei *G. lacustris*

Für *G. lacustris* wurde eine LC_{50} von 5,7 mg/L Bisphenol A (nominal) ermittelt. Der Einfluss von Bisphenol A auf die Osmoregulation bei adulten *G. lacustris* wurde bei einer Expositionsdauer von maximal 96 h untersucht. Bisphenol A hatte keinen Einfluss auf die Osmolalität der Hämolymphe in den Gammariden. Die Natriumkonzentration in der Hämolymphe war tendenziell in der höchsten Bisphenol A-Konzentration (nominal 6,5 mg/L) erhöht. Eine Konzentrations-Wirkungs-Beziehung lag bei diesem Endpunkt jedoch nicht vor. Ebenso zeigte die Calciumkonzentration in der Hämolymphe keine normale Konzentrations-Wirkungs-Beziehung. Stattdessen stieg die Calciumkonzentration zuerst mit zunehmender Bisphenol A-Konzentration an und nahm in den höchsten Bisphenol A-Konzentrationen wieder ab. Die Unterschiede zur Kontrolle waren nur nach 96 h Exposition signifikant. Ob es sich hierbei um eine endokrine Störung oder beispielsweise um einen direkten Effekt auf enzymatische Transportsysteme durch Bisphenol A handelt, ist unbekannt. Eine Abhängigkeit des Einflusses von Bisphenol A vom Geschlecht der Gammariden auf die untersuchten Endpunkte wurde nicht festgestellt.

Auch die Natrium- und Calciumkonzentrationen in der höchsten Bisphenol A-Konzentration waren kaum bzw. nicht unterschiedlich zu den anderen Ansätzen, dennoch waren die Gammariden in der höchsten Bisphenol A-Konzentration deutlich geschädigt (Immobilisation). Folglich waren die Effekte auf die untersuchten Endpunkte wahrscheinlich nicht verantwortlich für die Immobilisation und den Tod der Gammariden.

Im Rahmen der Untersuchung wurde bei einigen Gammariden unabhängig von der Exposition gegenüber Bisphenol A ein abweichendes Aussehen der Hämolymphe beobachtet. Hierbei könnte es sich vermutlich um eine bisher für Amphipoden unbekannte Speicherfunktion der Hämolymphe für Calcium im „premolt stage“ des Häutungszyklus von *G. lacustris* handeln.

V ZUSAMMENFASSUNG

Die vorliegende Arbeit war Bestandteil des Projekts Xehogamm, in dem der Einfluss von hormonell, insbesondere östrogen, wirksamen Umweltchemikalien auf *Gammarus fossarum* (Amphipoda, Crustacea) in natürlichen Populationen im Freiland und im Labor untersucht wurde.

Zusätzlich wurde der Einfluss von Bisphenol A auf die Osmoregulation bei *G. lacustris* untersucht, wobei unterschiedliche Effekte auf die Natrium- und Calciumkonzentration, nicht jedoch auf die Osmolalität, in der Hämolymphe nachgewiesen wurden.

Freilanduntersuchungen

Im Freiland wurde im Rahmen des Projekts über einen Zeitraum von zwei Jahren ein Expositions- und Effektmonitoring bei zwei Fließgewässern (Lockwitzbach und Körsch) an Probenahmestellen jeweils oberhalb und unterhalb des Einleiters eines kommunalen Klärwerks durchgeführt. Gegenstand der vorliegenden Arbeit waren dabei die Untersuchungen zur Populationsökologie von *G. fossarum*. Folgende Populationsvariablen wurden erfasst: Abundanz, Geschlechterverhältnis, Anteil von Juvenilen, Anteil brütender Weibchen, Fekundität, Körperlängen und Infektion mit Acanthocephalen.

Unterschiede in der Populationsstruktur und -dynamik von *G. fossarum* waren in der Körsch deutlicher ausgeprägt als im Lockwitzbach. An der unteren Probenahmestelle der Körsch war der Anteil der Juvenilen mit der kleinsten Körperlänge sowie der Anteil brütender Weibchen erniedrigt. Tendenziell traf dies auch für die untere Probenahmestelle beim Lockwitzbach im zweiten Untersuchungsjahr zu. Bei der Körsch ist außerdem der frühere Beginn der herbstlichen Reproduktionspause und die geringere Körperlänge adulter Gammariden möglicherweise auf den Einfluss des Klärwerkseinleiters zurückzuführen.

Trotz der Hinweise auf eine erniedrigte Reproduktion wurden an der unteren Probenahmestelle der Körsch die höchsten Abundanzen an *G. fossarum* gefunden. An der unteren Probenahmestelle bei der Körsch wurden folglich die erniedrigten Reproduktionsvariablen (geringerer Anteil der kleinsten Juvenilen und der brütenden Weibchen) durch andere Faktoren kompensiert. Eine Rolle hierbei könnten die Temperatur und die Phosphatkonzentration im Wasser spielen. Aufgrund der höheren Wassertemperatur war die Brutentwicklungszeit an der unteren Probenahmestelle der Körsch wahrscheinlich kürzer als oberhalb. Durch die höhere Phosphatkonzentration im Wasser unterhalb des Einleiters an der Körsch konnte möglicherweise ein vermehrtes Algenwachstum stattfinden, wodurch indirekt die Nahrungs-

tuation der Gammariden verbessert wurde. Im Gegensatz zur Situation bei der Körsch war der Phosphateintrag und damit der Nährstoffeintrag durch den Einleiter beim Lockwitzbach geringer und damit vermutlich auch die Nahrungsversorgung für die Gammariden. Einerseits war dies wahrscheinlich der Grund, weshalb es keine gravierende Erhöhung der Abundanz an der unteren Probenahmestelle beim Lockwitzbach gab. Andererseits waren die Effekte auf die Reproduktion jedoch nicht stark genug, um sich in einer erniedrigten Abundanz an dieser Probenahmestelle zu manifestieren.

Es wurde erstmalig Intersexualität bei *G. fossarum* festgestellt. Im Lockwitzbach war der Anteil an Intersexen bei den adulten Gammariden mit etwa 5 - 15 % höher als in der Körsch mit < 1 %. Intersexualität wurde nicht durch die Einleiter induziert. Bei den Intersexen handelt es sich um funktionelle Weibchen. Wodurch dieses Phänomen ausgelöst wird und welche Bedeutung es für die Population hat, wird in weiteren Studien untersucht.

Fließbrinnenexperiment

In fünf künstlichen Fließbrinnen im Gewächshaus wurde *G. fossarum* paarweise (im MTT) und in Gruppen (in größeren Expositionsgefäßen) sowie als größenstrukturierte Population in der Fließrinne selbst über 103 Tage exponiert. Die Nominalkonzentrationen von Bisphenol A in drei Fließbrinnen betrugen 5, 50 und 500 µg/L. Die berechneten Effektivkonzentrationen waren 0,24; 2,4 und 24,1 µg/L Bisphenol A. Eine Fließrinne diente als Kontrolle und wurde wie die Fließbrinnen mit Bisphenol A auf eine Wassertemperatur von 15 °C eingestellt, eine weitere auf 17 °C. Durch den Vergleich dieser beiden Fließbrinnen ohne Bisphenol A sollte untersucht werden, inwieweit eine relativ geringe Erhöhung der Wassertemperatur die Populationsentwicklung von *G. fossarum* beeinflusst.

Bei höherer Wassertemperatur verkürzte sich die Brutentwicklungszeit. Im weiteren Verlauf des Experiments trat eine sehr hohe Mortalität in der Fließrinne mit 17 °C auf, die nicht durch einen direkten Einfluss der höheren Temperatur zu erklären ist.

Hauptziel des Fließbrinnenexperiments war die Erfassung populationsrelevanter Endpunkte bei *G. fossarum* unter dem Einfluss von Bisphenol A. Im MTT wurden Mortalität, Präkopulabildung, Anteil reproduzierender Weibchen, Brutentwicklungszeit, Brutgröße und Fekunditätsindex bestimmt. Zusätzlich wurde das Überleben der in den MTTs produzierten F1-Generation gesondert nach aufeinanderfolgenden Bruten in Expositionsgefäßen beobachtet. Bei gruppenweise eingesetzten Gammariden in Expositionsgefäßen wurden Daten zur Mortalität dieser Adulten und zur Abundanz ihrer F1-Generation erhoben. Die Populationen in den Fließbrinnen wurden hinsichtlich Abundanz, Geschlechterverhältnis, Anteil Juveniler und brütender Weibchen, Körperlängen und Driftverhalten analysiert.

Im Wasser der Fließrinne mit der niedrigsten Konzentration von Bisphenol A war die Nitritkonzentration in den ersten Tagen aus unbekannten Grund erhöht. Ob Effekte in dieser Fließrinne auf Bisphenol A oder Nitrit zurückzuführen sind, ist unbekannt. In den ersten drei aufeinanderfolgenden Bruten zeigte sich in der höchsten Bisphenol A-Konzentration die größte Brutgröße. Im weiteren Verlauf des Experiments übte Bisphenol A wahrscheinlich einen hemmenden Einfluss auf die Reproduktion der Gammariden aus. Basierend auf den Nominalkonzentrationen wurden folgende EC_{10} -Werte berechnet: Anteil reproduzierender Weibchen für die 4. Brut (MTT): 22 µg/L, Brutgröße der 4. Brut (MTT): 11 µg/L, Anteil brütender Weibchen (Population): 212 µg/L und Anteil Juveniler (Population): 153 µg/L Bisphenol A. Die EC_{10} -Werte basierend auf Effektivkonzentrationen für dieselben Endpunkte betragen: im MTT 1,1 µg/L (reproduzierende Weibchen) und 0,5 µg/L (Brutgröße), in der Population 10 µg/L (Anteil brütender Weibchen) und 10 µg/L (Anteil Juveniler). Verglichen mit der ebenfalls ermittelten LC_{50} (96 h) von 1.870 µg/L sind die EC_{10} -Werte basierend auf den Nominalkonzentrationen etwa um den Faktor 9 - 170 bzw. basierend auf den Effektivkonzentrationen etwa um den Faktor 190 - 3.700 niedriger.

Vergleich Freiland – Fließrinnenexperiment

In den Freilanduntersuchungen wurden im Rahmen des Projekts verschiedene Umweltchemikalien im Bachwasser analysiert. Bei Vertebraten ist eine östrogene Wirksamkeit dieser Substanzen bekannt oder wird vermutet. Möglicherweise könnten diese Substanzen auch auf Crustaceen eine endokrine Wirkung haben. In den Gammaridenpopulationen unterhalb der Klärwerkseinleiter waren Reproduktionsvariablen im Vergleich zu oberhalb erniedrigt. Dabei könnte es sich um endokrine Effekte des Gemisches aus nachgewiesenen und weiteren, nicht analysierten Umweltchemikalien im Bachwasser handeln. Von den nachgewiesenen Substanzen wurde eine Einzelsubstanz, Bisphenol A, für das Fließrinnenexperiment ausgewählt. Im Fließrinnenexperiment wurde Bisphenol A zwar in höheren Konzentrationen als im Freiland vorhanden eingesetzt, die beobachteten Effekte weisen jedoch in dieselbe Richtung wie die Effekte im Freiland. Beispielsweise war sowohl im Freiland als auch im Fließrinnenexperiment der Anteil brütender Weibchen erniedrigt. Daher kann nicht ausgeschlossen werden, dass auch die Effekte im Freiland auf einer endokrinen Wirkung von Umweltchemikalien beruhen könnten.

VI LITERATURVERZEICHNIS

- Aarset, A.V. & Aunaas, T. (1987): Osmotic responses to hyposmotic stress in the amphipods *Gammarus wilkitzkii*, *Onisimus glacialis* and *Parathemisto libellula* from arctic waters. *Polar Biol.* 7: 189-193.
- Alexander, H.C., Dill, D.C., Smith, L.W., Guiney, P.D. und Dorn, P. (1988): Bisphenol A: acute aquatic toxicity. *Environ. Toxicol. Chem.* 7: 19-26.
- Ali, A.J. & Dumont, H.J. (1995): Larviculture of the fairy shrimp, *Streptocephalus proboscideus* (Crustacea, Anostraca) - effect of food concentration and physical properties and chemical properties of the culture medium. *Hydrobiol.* 298 (1-3): 159-165.
- Anders, F., (1957): Über die geschlechtsbeeinflussende Wirkung von Farballelen bei *Gammarus pulex* ssp. *subterraneus*. *Z. indukt. Abstamm.- und Vererbungslehre* 88: 291-332.
- Andersen, H.R., Halling-Sorensen, B. und Kusk, K.O. (1999): A parameter for detecting estrogenic exposure in the copepod *Acartia tonsa*. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 44: 56-61.
- Andersen, H.R., Wollenberger, L., Halling-Sorensen, B. und Kusk, K.O. (2001): Development of copepod nauplii to copepodites - a parameter for chronic toxicity including endocrine disruption. *Environ. Toxicol. Chem.* 20: 2821-2829.
- Ankley, G., Mihaich, E., Stahl, R., Tillitt, D., Colborn, T., McMaster, S., Miller, R., Bantle, J., Campbell, P., Denslow, N., Dickerson, R., Folmar, L., Fry, M., Giesy, J., Gray, L.E., Guiney, P., Hutchinson, T.H., Kennedy, S., Kramer, V., LeBlanc, G., Mayes, M., Nimrod, A., Patino, R., Peterson, R., Purdy, R., Ringer, R., Thomas, P., Touart, L., van der Kraak, G. und Zacharewski, T. (1998): Overview of a workshop on screening methods for detecting potential (anti-) estrogenic/androgenic chemicals in wildlife. *Environ. Toxicol. Chem.* 17: 68-87.
- Ashby, J., Odum, H., Tinwell, H. und Lefevre, P.A. (1997): Assessing the risks of adverse endocrine-mediated effects: where to from here? *Reg. Toxicol. Pharmacol.* 26: 80-93.
- Auger, J., Kunstmann, J.M., Czyglik, F. und Jouannet, P. (1995): Decline in semen quality among fertile men in Paris during the past 20 years. *N. Engl. J. Med.* 332: 2851-2853.
- Bärlocher, F. (1985): The role of fungi in the nutrition of stream invertebrates. *Bot. J. Linn. Soc.* 91: 83-94.
- Baldwin, W.S., Milam D.L. und LeBlanc, G.A. (1995): Physiological and biochemical perturbations in *Daphnia magna* following exposure to the model environmental estrogen diethylstilbestrol. *Environ. Toxicol. Chem.* 14: 945-952.
- Bettin, C., Oehlmann, J. und Stroben, E. (1996): TBT-induced imposex in marine neogastropods is mediated by an increasing androgen level. *Helgol. Meereswiss. Unters.* 50: 299-317.

- Bianca, S., Li Volti, G., Caruso-Nicoletti, M., Ettore, G., Barone, P., Lupo, L., Li Volti, S. (2003): Elevated incidence of hypospadias in two sicilian towns where exposure to industrial and agricultural pollutants is high. *Reprod. Toxicol.* 17 (5): 539-545.
- Bick, H. (1959): *Gammarus pulex fossarum* KOCH 1835 als Fallaubzersetzer. *Z. Fischerei* 8: 635-638.
- Birkhead, T.R. & Clarkson, K. (1980): Mate selection and precopulatory guarding in *Gammarus pulex*. *Z. Tierpsychol.* 52: 365-380.
- Bollache, L., Gambade, G. und Cézilly, F. (2000): The influence of micro-habitat segregation on size assortative pairing in *Gammarus pulex* (L.) (Crustacea, Amphipoda). *Arch. Hydrobiol.* 147: 547-558.
- Bolz, U., Hagenmaier, H. und Körner, W. (2001): Phenolic xenoestrogens in surface water, sediments, and sewage sludge from Baden-Württemberg, south-west Germany. *Environ. Pollut.* 115 (2): 291-301.
- Borgmann, U. (1996): Systematic analysis of aqueous ion requirements of *Hyaletella azteca*: a standard artificial medium including the essential bromide ion. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*: 356-363.
- Borowsky, B. (1991): Patterns of reproduction of some amphipod crustaceans and insights into the nature of their stimuli. In: Bauer, E.T. & Martin, J.W. (Hrsg.): *Crustacean Sexual Biology*. Columbia University Press, New York: 34-49.
- Børseth, J.F., Aunaas, T., Denstad, J.-P., Nordtug, T., Olsen, A.J., Schmid, R., Skjærvo, G. und Zachariassen, K.E. (1995): Transmembrane sodium energy gradient and calcium content in the adductor muscle of *Mytilus edulis* L. in relation to the toxicity of oil and organic chemicals. *Aquat. Toxicol.* 31: 263-276.
- Bright, D.A. & Ellis, D.V. (1990): A comparative survey of imposex in the Northeast Pacific gastropods (Prosobranchia) related to tributyltin contamination, and choice of a suitable indicator. *Can. J. Zool.* 68: 1915-1924.
- Brooks, S.J. & Mills, C.L. (2003): The effect of copper on the osmoregulation in the freshwater amphipod *Gammarus pulex*. *Comp. Biochem. Phys. A* 135: 527-537.
- Brown, A.F. & Pascoe, D. (1989): Parasitism and host sensitivity to cadmium: an acanthocephalan infection of the freshwater amphipod *Gammarus pulex*. *J. Appl. Ecol.* 26: 473-487.
- Brzezińska-Błaszczyk, E. & Jażdżewski, K. (1980): Reproductive cycle of *Gammarus fossarum* Koch (Crustacea, Amphipoda) in different thermic conditions. *Acta Univ. Lodz* 2: 129-153.
- Buikema, A.L., Chester, A.L. & Steeves, H.R. (1980): Intersexuality in *Gammarus minus* Say. *Crustaceana* (suppl.) 6: 111-117.
- Bulnheim, H.-P. (1965): Untersuchungen über Intersexualität bei *Gammarus duebeni* (Crustacea, Amphipoda). *Helgol. wiss. Meeresunters.* 12: 349-394.
- Bulnheim, H.-P. (1972): On sex-determining factors in some euryhaline *Gammarus* species. In: Battaglia, B. (Hrsg.): *Fifth European Marine Biology Symposium*, Padova: 115-130.
- Bulnheim, H.-P. (1975): Microsporidian infections of amphipods with special reference to host-parasite relationships: a review. *Mar. Fish. Rev.* 37: 39-45.

- Bulnheim, H.-P. (1978): Interaction between genetic, external and parasitic factors in sex determination of the crustacean amphipod *Gammarus duebeni*. Helgol. wiss. Meeresunters. 31: 1-33.
- Carlsen, E., Givercman, A., Keiding, N. und Skakkebaek, N. (1992): Evidence for decreasing quality of semen during past 50 years. Brit. Med. J. 305: 609-613.
- Caspers, N. (1998): No estrogenic effects of Bisphenol A in *Daphnia magna* STRAUS. Bull. Environ. Contamin. Toxicol. 61: 143-148.
- Cézilly, F., Gregoire, A. und Bertin, A. (2000): Conflict between co-occurring manipulative parasites? An experimental study of the joint influence of two acanthocephalan parasites on the behaviour of *Gammarus pulex*. Parasitology 120: 625-630.
- Chapman, P.F., Crane, M., Wiles, J.A., Noppert, F. und McIndoe, E.C. (1996): Asking the right questions: ecotoxicology and statistics. Report of a workshop held at Royal Holloway University of London, Egham, Surrey, UK. SETAC Press, Brüssel: 1-46.
- Charniaux-Cotton, H. (1960): Sex determination. In: Waterman, T.H. (Hrsg.): The Physiology of Crustacea. Bd. 1, Academic Press, New York, London: 411-447.
- Charniaux-Cotton, H. & Payen, G. (1985): Sexual differentiation. In: Bliss, D.E. & Mantel, L.H. (Hrsg.): The biology of crustacea. Band 9. Academic Press, New York: 217-299.
- Charniaux-Legendre, H. (1952): Le cycle d'intermue des amphipodes et ses particularités chez les formes terrestres (Talitridae). Arch. Zool. Exp. Gen. 88 : 1297-1298.
- Chiang, R.G. & Steel, C.G.H. (1985): Structural organization of neurosecretory cells terminating in the sinus gland of the terrestrial isopod *Oniscus asellus* revealed by paraldehyde fuchsin and cobalt backfilling. Can. J. Zool. 63: 543-549.
- Christiansen, T., Korsgaard, B. und Jespersen, A. (1998). Effects of nonylphenol and 17-Alpha-ethinylöstradiol on vitellogenin synthesis, testicular structure and cytology in male eelpout *Zoarces viviparus*. J. Exp. Biol. 201(2): 179-192.
- Colborn, T., vom Saal, F.S. und Soto, A.M. (1993): Developmental effects of endocrine disrupting chemicals on wildlife and humans. Environ. Health Perspect. 101: 378-384.
- Colborn, T. & Thayer, K. (2000): Aquatic ecosystems: Harbingers of endocrine disruption. Ecol. Applic. 10: 949-957.
- Crain, D.A., Guillelte, L.J., Pickford, D.B., Percival, H.F. und Woodward, A.R. (1998): Sex-steroid and thyroid hormone concentrations in juvenile alligators (*Alligator mississippiensis*) from contaminated and reference lakes in Florida, U.S.A. Env. Toxicol. Chem. 17 (3): 446-452.
- DeMarch, B.G.E. (1982): Decreased day length and light intensity as factors inducing reproduction in *Gammarus lacustris lacustris* Sars. Can. J. Zool. 60: 2962-2965.
- Dermott, R.M. & Spence, H.J. (1984): Changes in populations and drift of stream invertebrates following lampricide treatment. Can. J. Fish. Aquat. Sci. 41: 1695-1701.
- Desbrow, C., Routledge, E.J., Brigthy, G.C., Sumpter, J.P. und Waldock, M. (1998): Identification of estrogenic chemicals in STW effluent. 1. Chemical fractionation and in vitro biological screening. Environ. Sci. Technol. 32: 1549-1558.

- Dick, J.T.A. & Elwood, R.W. (1989): Assessments and decisions during mate choice in *Gammarus pulex* (Amphipoda). Behaviour 109: 235-246.
- Dinan, L., Bourne, P., Whiting, P., Dhadialla, T.S. und Hutchinson, T. (2001): Screening of environmental contaminants for ecdysteroid agonist and antagonist activity using the *Drosophila melanogaster* BII cell in vitro assay. Environ. Toxicol. Chem. 20: 2038-2046.
- Dodds, E.C. & Lawson, W. (1936): Synthetic estrogenic agents without the phenanthrene nucleus. Nature 137: 996-996.
- Dodge, J.A., Glasebrook, A.L., Magee, D.E., Phillips, D.L., Sato, M., Short, L.L. und Bryant, H.U. (1996): Environmental estrogens: effects on cholesterol lowering and bone in the ovariectomized rat. J. Steroid Biochem. Mol. Biol. 59: 155-161.
- Dubos, M.-P., Badariotti, F., Rodet, F., Lelong, C. und Favrel, P. (2003): Molecular and physiological characterization of an invertebrate homologue of a calcitonin-related receptor. Biochem. Biophys. Res. Comm. 310: 972-978.
- Duft, M., Tillmann, M., Schulte-Oehlmann, U., Markert, B. und Oehlmann, J. (2002): Entwicklung eines Sedimentbiotests mit der Zwergdeckelschnecke *Potamopyrgus antipodarum* (Gastropoda: Prosobranchia). UWSF 14: 12-17.
- Duft, M., Schulte-Oehlmann, U., Weltje, L., Tillmann, M. und Oehlmann, J. (2003): Stimulated embryo production as a parameter of estrogenic exposure via sediments in the freshwater mudsnail *Potamopyrgus antipodarum*. Aquat. Toxicol. 64 (4): 437-449.
- Dunn, A.M., Adams, J. und Smith, J.E. (1990): Intersexes in a shrimp: a possible disadvantage of environmental sex determination. Evolution 44 (7): 1875-1878.
- Dunn, A.M., Adams, J. und Smith, J.E. (1994): Intersexuality in the crustacean *Gammarus duebeni*. Invertebr. Reprod. Dev. 25: 139-142.
- Dunn, A.M., McCabe, J. und Adams, J. (1996): Intersexuality in *Gammarus duebenii* (Amphipoda), a cost incurred in populations with environmental sex determination? Crustaceana 9 (3): 313-320.
- Eertmans, F., Dhooge, W., Stuyvaert, S. und Comhaire, F. (2003): Endocrine disruptors: effects on male fertility and screening tools for their assessment. Toxicol. In Vitro 17: 515-524.
- Eisler, R. & Edmunds, P.H. (1966): Effects of endrin on blood and tissue chemistry of a marine fish. Trans. Am. Fish. Soc. 95: 153-159.
- Elmgren, R. (1973): Methods of sampling sublittoral soft bottom meiofauna. Oikos (Suppl.) 15: 112-120.
- European Commission (1997): European workshop on the impact of endocrine disruptors on human health and wildlife. Report of the proceedings, Brüssel.
- European Commission - European Chemicals Bureau (2002): UK Final Draft Risk Assessment Report Bisphenol A. Online verfügbar: <http://ecb.jrc.it/existing-chemicals>.
- Fang, H., Tong, W., Branham, W.S., Moland, C.L., Dial, S.L., Hong, H., Xie, Q., Perkins, R., Owens, W. und Sheehan, D.M. (2003): Study of 202 natural, synthetic, and environmental chemicals for binding to the androgen receptor. Chem. Res. Toxicol. 16: 1338-1358.

- Florey, E. (1975): Lehrbuch der Tierphysiologie. Eine Einführung in die allgemeine und vergleichende Physiologie der Tiere. 2. Auflage, Georg Thieme Verlag, Stuttgart.
- Foeckler, F. & Schrimppff, E. (1985): Gammarids in streams of Northeastern Bavaria, F. R. G. II. The different hydrochemical habitats of *Gammarus fossarum* KOCH, 1835 and *Gammarus roeseli* GERVAIS, 1835. Arch. Hydrobiol. 104: 269-286.
- Forbes, V.E., Calow, P. und Sibly, R.M. (2001): Are current species extrapolation models a good basis for ecological risk assessment? Environ. Toxicol. Chem. 20: 442-447.
- Forbes, V.E. & Calow, P. (1999): Is the per capita rate of increase a good measure of population-level effects in ecotoxicology? Environ. Toxicol. Chem. 18: 1544-1556.
- Ford, A.T., Fernandes, T.F., Rider, S.A., Read, P.A., Robinson, C.D. und Davies, I.M. (2003a): Endocrine disruption in a marine amphipod? Field observations of intersexuality and de-masculinisation. Mar. Environ. Res., im Druck.
- Ford, A.T., Fernandes, T.F., Rider, S.A., Read, P.A., Robinson, C.D. und Davies, I.M. (2003b): Reproduction in the amphipod, *Echinogammarus marinus*: a comparison between normal and intersex specimens. J. Mar. Biol. Ass. U.K. 83: 937-940.
- Ford, A.T., Fernandes, T.F., Rider, S.A., Read, P.A., Robinson, C.D. und Davies, I.M. (eingereicht): The costs of intersexuality: a crustacean perspective. Mar. Biol.
- Franke, U. (1977): Experimentelle Untersuchungen zur Respiration von *Gammarus fossarum* KOCH 1835 (Crustacea-Amphipoda) in Abhängigkeit von Temperatur, Sauerstoffkonzentration und Wasserbewegung. Arch. Hydrobiol. (Suppl.) 48: 369-411.
- Fromme, H., Küchler, T., Otto, T., Pilz, K., Müller, J. und Wenzel, A. (2002): Occurrence of phthalates and bisphenol A and F in the environment. Wat. Res. 36 (6): 1429-1438.
- Gee, J.H.R. (1982): Resource utilization by *Gammarus pulex* (amphipoda) in a Cotswold stream: a microdistribution study. J. Anim. Ecol. 51: 817-832.
- Gies, A. (1997): Endokrine Umweltchemikalien aus europäischer und nationaler Sicht - Forschungsvorhaben, Ergebnisse und Handlungsbedarf. In: Schadstoffe mit hormoneller Wirkung - Wie sicher ist unsere Zukunft? Internat. Hearing zu endokrin wirksamen Stoffen in der Umwelt. Niedersächsisches Umweltministerium, WWF Deutschland: 15-18.
- Gimeno, S., Gerritsen, A. und Bowmer, T. (1996): Feminization of male carp. Nature 384: 221-222.
- Ginsburger-Vogel, T. (1975): Temperature-sensitive intersexuality and its determinism in *Orchestia gammarella* Pallas. In: Reinboth, E. (Hrsg.): Intersexuality in the animal kingdom. Springer-Verlag, Berlin: 106-120.
- Goedmakers, A. (1972): *Gammarus fossarum* KOCH, 1835: Rediscription based on neotype material and notes on its local variation (Crustacea, Amphipoda). Bijdragen tot de Dierkunde 42: 124-138.
- Graf, F. (1964): Étude de la variation du calcium total au cours du cycle d'intermue chez les Crustacés Amphipodes *Gammarus pulex* L. et *Orchestia gammarella* Pallas. C. R. Acad. Sc. Paris 259: 2703-2705.

- Graf, F. (1986): Fine determination of the molt cycle stages in *Orchestia cavimana* Heller (Crustacea: Amphipoda). J. Crust. Biol. 6: 666-678.
- Graf, F. & Michaut, P. (1977): Les sphérules calciques de l'épithélium caecal d'*Orchestia* (Crustacé, Amphipode), forme de transport de calcium dans le sens apico-basal. C. R. Acad. Sc. Paris, Serie D, 284: 49-52.
- Greenaway, P. (1985): Calcium balance and moulting in the Crustacea. Biol. Rev. 60: 425-454.
- Greenaway, P. (1993): Calcium and magnesium balance during molting in land crabs. J. Crust. Biol. 13: 191-197.
- Gross, M.Y., Maycock, D.S., Thorndyke, M.C., Morrith, D. und Crane, M. (2001): Abnormalities in sexual development of the amphipod *Gammarus pulex* (L.) found below sewage treatment works. Environ. Toxicol. Chem. 20: 1792-1797.
- Guillette, L.J. & Guillette, E.A. (1996): Environmental contaminants and reproductive abnormalities in wildlife: implications for public health? Toxicol. Indust. Health 12: 537-550.
- Haeckel, J.-W., Meijering, M.P.D. und Rusetzk, H. (1973): *Gammarus fossarum* KOCH als Fallaubersetzer in Waldbächen. Freshw. Biol. 3: 241-249.
- Hamm, A. (1991): Studie über die Wirkung und Qualitätsziele von Nährstoffen in Fließgewässern. 1. Auflage, Academia Verlag, Sankt Augustin.
- Harries, J.E., Sheahan, D.A., Jobling, S., Matthiessen, P., Neall, P., Routledge, E.J., Rycroft, R., Sumpter, J.P. und Tylor, T. (1996): A survey of estrogenic activity in United Kingdom inland waters. Environ. Toxicol. Chem. 15: 1993-2002.
- Harrison, P.T.C., Holmes, P. und Humfrey, C.D.N. (1997): Reproductive health in human and wildlife: are adverse trends associated with environmental chemical exposure? Sci. Total Environ. 205 (2-3): 97-106.
- Hasegawa, Y., Hirose, E. und Katakura, Y. (1993): Hormonal control of sexual differentiation and reproduction in crustacea. Amer. Zool. 33: 403-311.
- Heemken, O.P., Reincke, H., Stachel, B. und Theobald, N. (2001): The occurrence of xenoestrogens in the Elbe river and the North Sea. Chemosphere 45: 245-259.
- Heinisch, E., Kettrup, A. und Wenzel-Klein, S. (1993): Retrospektive Daten - Prospektive Aussagen, DDT/Lindan-Masseneinsätze in der DDR, Ökochemisch-ökotoxikologische Folgen. UWSF 5 (5): 277-280.
- Heinze, K. (1932): Fortpflanzung und Brutpflege bei *Gammarus pulex* L. und *Carinogammarus Roeselii* Gerv. Zool. Jb. Allg. Zool. 51: 397-440.
- Herrguth, H., Göhlert, T., Rentsch, M. und Katzer, N. (1995): Einschätzung der ökologischen Bedeutung und des naturschutzfachlichen Wertes von Gebieten am Dresdener Stühlhang. 164-169.
- Hurlbert, S.H. (1984): Pseudoreplication and the design of ecological field experiments. Ecol. Monographs 54: 187-211.
- Hutchinson, T.H. (2002): Reproductive and developmental effects of endocrine disrupters in invertebrates: in vitro and in vivo approaches. Toxicol. Letters 131: 75-81.
- Hutchinson, T.H., Pounds, N.A., Hampel, M. und Williams, T.D. (1999): Impact of natural and synthetic steroids on the survival, development and reproduction of ma-

- rine copepods (*Tisbe battagliai*). Sci. Total Environ. 233: 167-179.
- Hynes, H.B.N. (1955): The reproductive cycle of some British freshwater Gammaridae. J. Anim. Ecol. 24: 352-387.
- Hynes, H.B.N. & Harper, F. (1972): The life histories of *Gammarus lacustris* and *G. pseudolimnaeus* in southern Ontario. Crustaceana (Suppl.) 3: 329-341.
- Ike, M., Jin, C.S. und Fujita, M. (2000): Biodegradation of bisphenol A in the aquatic environment. Water Sci. Technol. 42 (7-8): 31-38.
- Inman, C.B.E. & Lockwood, A.P.M. (1977): Some effects of methylmercury and lindane on sodium regulation in the amphipod *Gammarus duebeni* during changes in the salinity of its medium. Comp. Biochem. Phys. C 58: 67-75.
- Irvine, S., Cawood, E., Richardson, D., MacDonald, E. und Aitken, J. (1996): Evidence of deteriorating semen quality in the United Kingdom: birth cohort study in 577 men in Scotland over 11 years. Brit. Med. J. 312: 467-471.
- Janetzky, W.G. (1994): Distribution of the genus *Gammarus* (Amphipoda, Gammaridae) in the River Hunte and its tributaries (Lower Saxony, Northern Germany). Hydrobiol. 294: 23-34.
- Jensen, P. (1982): A new meiofauna sample splitter. Ann. Zool. Fennici 19: 233-236.
- Jobling, S., Casey, D., Rodgers-Gray, T., Oehlmann, J., Schulte-Oehlmann, U., Pawlowski, S., Braunbeck, T., Turner, A.P. und Tyler, C.R. (2003): Comparative responses of molluscs and fish to environmental estrogens and an estrogenic effluent. Aquat. Toxicol. 65: 205-220.
- Jobling, S. & Sumpter, J.P. (1993): Detergent components in sewage effluent are weakly oestrogenic to fish: An in vitro study using rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) hepatocytes. Aquat. Toxicol. 27: 361-372.
- Jowett, P.E., Rhead, M.M. und Bayne, B.L. (1981): In vivo changes in the activity of gill ATPases and haemolymph ions of *Carcinus maenas* exposed to *p,p'*-DDT and reduced salinities. Comp. Biochem. Phys. C 69: 399-402.
- Jungmann, D., Brust, K., Licht, O., Schmidt, J., Ludwichowski, K.-U. und Nagel, R. (2001a): Stellenwert von Ökosystemtests bei der ökologischen Risikobewertung gefährlicher Stoffe in Oberflächengewässern. Teile I-III. Abschlussbericht zum F+E-Vorhaben 295 63 075, Umweltbundesamt Berlin.
- Jungmann, D., Brust, K., Licht, O., Mählmann, J., Schmidt, J. und Nagel, R. (2001b): Artificial indoor streams as a method to investigate the impact of chemicals on lotic communities. Environ. Sci. Pollut. Res. 8 (1): 49-55.
- Jungmann, D., Köhler, A.M.I., Köhler, H.-R., Ladewig, V., Licht, O., Ludwichowski, K.-U., Schirling, M., Triebkorn, R. und Nagel, R. (2004a): Umweltchemikalien mit Wirkung auf das Hormonsystem – TV 5: Wirkung von Xenohormonen in aquatischen Ökosystemen. Teile I+II. Abschlussbericht zum F+E-Vorhaben 299 65 221/05, Umweltbundesamt Berlin.
- Jungmann, D., Ladewig, V., Ludwichowski, K.-U., Petzsch, P. und Nagel, R. (2004b): Intersexuality in *Gammarus fossarum* KOCH - a common inducible phenomenon? Arch. Hydrobiol. 159 (4): 511-529.
- Kirk, C.J., Bottomley, L., Minican, N., Carpenter, H., Shaw, S., Kohli, N., Winter, M., Taylor, E.W., Waring, R.H., Michelangeli, F. und Harris, R.M. (2003): Environ-195

- mental endocrine disrupters dysregulate estrogen metabolism and Ca^{2+} homeostasis in fish and mammals via receptor-independent mechanisms. *Comp. Biochem. Phys. A* 135: 1-8.
- Klečka, G.M., Gonsior, S.J., West, R.J., Goodwin, P.A. und Markham, D.A. (2001): Biodegradation of bisphenol a in aquatic environments: River die-away. *Environ. Tox. Chem.* 20 (12): 2725-2735.
- Köhler, H.-R., Schirling, M., Köhler, A.M.I., Tribskorn, R., Nagel, R., Paul, M. und Schönfelder, G. (eingereicht): Induction of an estrogen receptor-like protein in *Gammarus fossarum* (Crustacea, Amphipoda) by 17 α -ethinylestradiol.
- Köhler W., Schachtel, G. und Voleske, P. (1995): Biostatistik. 2. Auflage. Springer, Berlin, Heidelberg, New York, London, Paris, Tokyo, Hongkong, Barcelona, Budapest.
- Körner, W. (2000): Nachweis von estrogen- und androgenartig wirksamen Substanzen in der Umwelt durch Kombination von chemischer und biologischer Analytik. Habilitationsschrift, Eberhard-Karls-Universität Tübingen.
- Körner, W., Hanf, V., Schuller, W., Zwirner, M. und Hagenmaier, H. (1997): Entwicklung und praktische Erprobung eines einfachen Screening-Systems für estrogenartig wirkende Umweltchemikalien. Abschlussbericht Projekt Umwelt und Gesundheit PUG, Baden-Württemberg (PUG U95004).
- Körner, W., Spengler, P., Bolz, U., Schuller, W., Hanf, V. und Metzger, J.W. (2001): Substances with estrogenic activity in effluents of sewage treatment plants in southwestern Germany. *Environ. Toxicol. Chem.* 20: 2142-2151.
- Kopf, W. (1997): Wirkungen endokriner Stoffe in Biotests mit Wasserorganismen. *Münchner Beitr. Abwasser-, Fischerei- und Flußbiol.* 50: 82-101.
- Ladewig, V., Jungmann, D., Koehler, A., Schirling, M., Tribskorn, R. und Nagel, R. (2002): Intersexuality in *Gammarus fossarum* Koch, 1835 (Amphipoda). *Crustaceana* 75 (11): 1289-1299.
- Landesvermessungsamt Sachsen (1916): Geologische Karte von Sachsen Nr. 65.
- Leffler, C.W. (1975): Effects of ingested mirex and DDT on juvenile *Callinectes sapidus* Rathbun. *Environ. Pollut.* 8: 283-299.
- Legrand, J.J., Legrand-Hamelin, E. und Juchault, P. (1987): Sex determination in Crustacea. *Biol. Rev.* 62: 439-470.
- Lehmann, U. (1967): Drift und Populationsdynamik von *Gammarus pulex fossarum* KOCH. *Z. Morph. Ökol. Tiere* 60: 227-274.
- Lemos, M.F., Sousa, J.P. und Soares, A.M.V.M. (2004): Effects of endocrine disruptor compounds (EDCs) on growth of the isopod *Porcellio dilatatus* (Crustacea, Isopoda). Posterabstract SETAC Europe-Tagung 18.-22. April 2004, Prag.
- Lerchl, A. & Nieschlag, E. (1996): Decreasing sperm counts? A critical review. *Exp. Clin. Endocrinol. Diabetes* 104: 301-307.
- Le Roux, M.-L. (1933) : Recherches sur la sexualité des gammariens. *Bull. Biol. (Suppl.)* 16: 139 S.
- Licht, O., Jungmann, D., Ladewig, V., Ludwichowski, K.-U. und Nagel, R. (im Druck): Bisphenol-A in artificial indoor streams: I. Fate and effects on aufwuchs.

Ecotoxicol.

- Liess, M., Schulz, R. und Werner, U. (1993): Macroinvertebrate dynamics in ditches as indicator for surface water runoff. An ecological aspect for assessment of agriculture impact on running ecosystems. *Modeling Geo-Biosphere Processes* 2: 279-292.
- Lignot, J.-H., Pannier, F., Trilles, J.-P. und Charmantier, G. (1998): Effects of tributyltin oxide on survival and osmoregulation of the shrimp *Penaeus japonicus* (crustacea, decapoda). *Aquat. Toxicol.* 41: 277-299.
- Lignot, J.-H., Spanings-Pierrot, C. und Charmantier, G. (2000): Osmoregulatory capacity as a tool in monitoring the physiological condition and the effect of stress in crustaceans. *Aquaculture* 191: 209-245.
- Litchfield, J.T. & Wilcoxon, F. (1949): A simplified method of evaluating dose-effect experiments. *J. Pharmacol. Exp. Therap.* 96: 99-113.
- Ludwig, H.W. (1993): Tiere in Bach, Fluß, Tümpel, See: Merkmale, Biologie, Lebensraum, Gefährdung. 2. Auflage. BLV, München, Wien, Leipzig.
- Maccagno, T.P. & Cuniberti, A. (1956): Intersessualità in *Gammarus pungens* M. Edw. (Crustacei Anfibodi). *Atti Acc. Sci. Torino* 90: 171-188.
- MacNeil, C., Dick, J.T.A., Bigsby, E., Elwood, R.W., Montgomery, W.I., Gibbins, C.N. und Kelly, D.W. (2002): The validity of the *Gammarus: Asellus* ratio as an index of organic pollution: abiotic and biotic influences. *Wat. Res.* 36: 75-84.
- Maltby, L. (1995): Sensitivity of the crustaceans *Gammarus pulex* (L) and *Asellus aquaticus* (L) to short-term exposure to hypoxia and unionized ammonia: Observations and possible mechanisms. *Wat. Res.* 29: 781-787.
- Marcial, H.S., Hagiwara, A. und Snell, T.W. (2003): Estrogenic compounds affect development of harpacticoid copepod *Tigriopus japonicus*. *Environ. Toxicol. Chem.* 22: 3025-3030.
- Martin, A.L. (1965): The histochemistry of the moulting cycle in *Gammarus pulex* (Crustacea, Amphipoda). *J. Zool.* 147: 185-200.
- Matthiessen, P. (2000): Is endocrine disruption a significant ecological issue? *Ecotoxicol.* 9: 21-24.
- Matthiessen P. & Gibbs, P.E. (1998): Critical appraisal of the evidence for tributyltin-mediated endocrine disruption in mollusks. *Env. Toxicol. Chem.* 17 (1): 37-43.
- McCahon, C.P. & Pascoe, D. (1988): Culture techniques for three freshwater macroinvertebrate species and their use in toxicity tests. *Chemosphere* 17: 2471-2480.
- Meade, M.E. & Watts, S.A. (1995): Toxicity of ammonia, nitrite, and nitrate to juvenile Australian crayfish, *Cherax quadricarinatus*. *J. Shellfish Res.* 14 (2): 341-346.
- Mehli, S.A. (1973): Livssyklus og biologi hos *Gammarus lacustris* Sars i Lille-Jonsvannet, med en hydrografisk oversikt. Master Thesis, NTNU Trondheim.
- Meijering, M.P.D. (1971): Die *Gammarus*-Fauna der Schlitzerländer Fließgewässer. *Arch. Hydrobiol.* 68: 575-608.
- Meijering, M.P.D. (1972a): Zur Methodik der Driftmessung im Rahmen produktionsbiologischer Untersuchungen in Fließgewässern. *Schlitzer produktionsbiologische Studien* 3: 69-73.

- Meijering, M.P.D. (1972b): Physiologische Beiträge zur Frage der systematischen Stellung von *Gammarus pulex* (L.) und *Gammarus fossarum* KOCH (Amphipoda). Crustaceana (Suppl.) 3: 313-325.
- Meijering, M.P.D. & Pieper, H.G. (1982): Die Indikatorbedeutung der Gattung *Gammarus* in Fließgewässern. Decheniana-Beihefte 26: 111-113.
- Metag, N. (2000): Erfassung der Populationsdynamik von *Gammarus fossarum* im Lockwitzbach. Diplomarbeit, TU Dresden.
- Meyran, J.-C., Sellem, E. und Fournie, J. (1993) Action of 1,25-dihydroxyvitamin D₃ on calcium metabolism in the crustacean *Orchestia cavimana* during the molt cycle. Comp. Biochem. Phys. A 106: 75-80.
- Moore, C.G. & Stevenson, J.M. (1991): The occurrence of intersexuality in harpacticoid copepods and its relationship with pollution. Mar. Poll. Bull. 22: 72-74.
- Moore, C.G. & Stevenson, J.M. (1994): Intersexuality in benthic harpacticoid copepods in the Firth of Forth, Scotland. J. Nat. Hist. 28: 1213-1230.
- Müller, K. (1997): Stoffe mit endokriner Wirkung in Oberflächengewässern Niedersachsens. In: Schadstoffe mit hormoneller Wirkung - Wie sicher ist unsere Zukunft? Internat. Hearing zu endokrin wirksamen Stoffen in der Umwelt. Niedersächsisches Umweltministerium, WWF Deutschland: 39-46.
- Munro, W.R. (1953): Intersexuality in *Asellus aquaticus* L. parasitized by a larval acanthocephalan. Nature 172: 313.
- Nagel, R. (1988): Umweltchemikalien und Fische - Beiträge zu einer Bewertung. Habilitationsschrift, Johannes-Gutenberg-Universität Mainz.
- Naylor, C., Adams, J. und Greenwood, P. (1988): Population dynamics and adaptive sexual strategies in a brackish water crustacean, *Gammarus duebeni*. J. Anim. Ecol. 57: 493-507.
- Naylor, C., Pindar, L. und Calow, P. (1990): Inter- and intraspecific variation in sensitivity to toxins: the effects of acidity and zinc on the freshwater crustaceans *Asellus aquaticus* (L.) and *Gammarus pulex* (L.). Wat. Res. 24: 757-762.
- Niiyama, H. (1950): The X-Y mechanism of the sex-chromosome in the male of *Anisogammarus annandalei* (Tattersall) (Crustacea: Amphipoda). Annot. zool. Jap. 23: 58-62.
- Nilsson, L.M. (1977): Incubation time, growth and mortality of the amphipod *Gammarus pulex* under laboratory conditions. Oikos 29: 93-98.
- Numanai, H. (1939): Behaviour of blood calcium in the formation of gastrolith in some decapod crustaceans. Japan. J. Zool. 8: 357-363.
- Obrdlik, P. (1972): A population of *Rivulogammarus fossarum* KOCH (Amphipoda) in a small fishless stream. Hydrobiol. 40: 279-295.
- Oehlmann, J., Fioroni, P., Stroben, E. und Markert, B. (1996): Tributyltin (TBT) effects on *Ocenebrina aciculata* (Gastropoda: Muricidae): imposex development, sterilization, sex change and population decline. Sci. Total Environ. 188: 205-223.
- Oehlmann, J., Bauer, B., Minchin, D., Schulte-Oehlmann, U., Fioroni, P. und Markert, B. (1998): Imposex in *Nucella lapillus* and intersex in *Littorina littorea*: inter-specific comparison of two TBT-induced effects and their geographical

- uniformity. *Hydrobiol.* 378: 199-213.
- Oehlmann, J., Schulte-Oehlmann, U., Tillmann, M. und Markert, B. (2000): Effects of endocrine disruptors on prosobranch snails (Mollusca: Gastropoda) in the laboratory. Part I: Bisphenol-A and Octylphenol as xeno-estrogens. *Ecotoxicol.* 9: 383-397.
- Oehlmann, J. & Schulte-Oehlmann, U. (2003): Endocrine disruption in invertebrates. *Pure Appl. Chem.* 75 (11-12): 2207-2218.
- Ökland, K.A. (1969): On the distribution and ecology of *Gammarus lacustris* G. O. Sars in Norway, with notes on its morphology and biology. *Nytt Mag. Zool.* 17: 111-152.
- Ökland, K.A. & Ökland, J. (1985): Factor interaction influencing the distribution of the freshwater 'shrimp', *Gammarus*. *Oecologia* 66: 364-367.
- Oksama, M. & Kristoffersson, R. (1980): Effects of phenol and 4-chlorophenol on ionic regulation in *Mesidotea entomon* (Crustacea) in brackish water. *Ann. Zool. Fennici* 17: 243-247.
- Parks, L.G. & LeBlanc, G.A. (1996): Reductions in steroid hormone biotransformation/elimination as a biomarker of pentachlorophenol chronic toxicity. *Aquat. Toxicol.* 34: 291-303.
- Petrovic, M., Solé, M., López de Alda, M.J. und Barceló, D. (2002): Endocrine disruptors in sewage treatment plants, receiving river waters, and sediments: Integration of chemical analysis and biological effects on feral carp. *Environ. Toxicol. Chem.* 21 (10): 2146-2156.
- Petzsch, P. (2002): Intersex bei *Gammarus fossarum* - Vorkommen und erste Ansätze einer Bewertung. Diplomarbeit, TU Dresden.
- Pfankuche, O. & Thiel, H. (1988): Sample Processing. In: Higgins, R.P. & Thiel, H. (Hrsg.): Introduction to the study of meiofauna. Smithsonian, Washington D.C.: 134-145.
- Pieper, H.G. (1978): Ökophysiologische und produktionsbiologische Untersuchungen an Jugendstadien von *Gammarus fossarum* KOCH 1835. *Arch. Hydrobiol. (Suppl.)* 54: 257-327.
- Pöckl, M. (1990): Dauer der Brutentwicklung, Schlüpferrfolg, Wachstum und Fekundität von vier Populationen von *G. fossarum* Koch, 1835 und von zwei Populationen von *G. roeseli* Gervais, 1835 (Crustacea: Amphipoda) aus österreichischen Fließgewässern. Dissertation, Universität Wien.
- Pöckl, M. (1993a): Beiträge zur Ökologie des Bachflohkrebses (*Gammarus fossarum*) und Flußflohkrebses (*Gammarus roeseli*). *Natur und Museum* 123: 114-125.
- Pöckl, M. (1993b): Reproductive potential and lifetime potential fecundity of the freshwater amphipods *Gammarus fossarum* and *G. roeseli* in Austrian streams and rivers. *Freshw. Biol.* 30: 73-91.
- Pöckl, M. (2002): Krebstiere: Flohkrebse (Crustacea: Amphipoda: Corophiidae und Gammaridae). In: Essl, F. & Rabitsch, W. (Hrsg.): Neobiota in Österreich. Umweltbundesamt Wien: 273-284.
- Pöckl, M. & Humpesch, H. (1990): Intra- and inter-specific variations in egg survival and brood development time for Australian populations of *Gammarus fossarum* 199

- and *G. roeseli* (Crustacea: Amphipoda). Freshw. Biol. 23: 441-455.
- Ponyi, E. (1956): Ökologische, ernährungsbiologische und systematische Untersuchungen an verschiedenen *Gammarus*-Arten. Arch. Hydrobiol. 52: 367-387.
- Purdom, C.E., Hardiman, P.A., Bye, V.J., Eno, N.C., Tyler, C.R. und Sumpter, J.P. (1994): Estrogenic effects of effluents from sewage treatment works. Chem. Ecol. 8: 275-285.
- Rajeswari, K., Kalarani, V., Reddy, D.C. und Ramamurthi, R. (1988): Acute toxicity of endosulfan to crabs: effect on hydromineral balance. Bull. Environ. Contam. Toxicol. 40: 212-218.
- Reuter, W. (1996): Chronische Toxizität und endokrine Wirkung einer schwerlöslichen Substanz, Di-(2-ethylhexyl)phthalat, auf die Entwicklung neugeborener Gammariden. Diplomarbeit, RWTH Aachen.
- Routledge, E.J., Sheahan, D., Desbrow, C., Brighty, G.C., Waldock, M. und Sumpter, J.P. (1998): Identification of estrogenic chemicals in STW effluent. 2. In vivo responses in trout and roach. Environ. Sci. Technol. 32: 1559-1565.
- Routledge, E.J. & Sumpter, J.P. (1996): Estrogenic activity of surfactants and some of their degradation products assessed using a recombinant yeast screen. Environ. Toxicol. Chem. 15: 241-248.
- Roux, A.L. (1971): Les gammares du groupe *pulex*: essai de systématique biologique. Arch. Zool. Exp. Gen. 112: 819-868.
- Sachs, L. (1997): Angewandte Statistik. 8. Auflage. Springer Verlag, Berlin.
- Sächsisches Landesamt für Umwelt und Geologie (1995): Landnutzungskarte des Freistaates Sachsen 1:100.000. C5146 Dresden.
- Safe, S.H. & Gaido, K. (1998): Phytoestrogens and anthropogenic estrogenic compounds. Environ. Toxicol. Chem. 17: 119-126.
- Saiyed, H., Dewan, A., Bhatnagar, V., Shenoy, U., Shenoy, R., Rajmohan, H., Patel, K., Kashyap, R., Kulkarni, P., Rajan, B. und Lakkad, B. (2003): Effect of endosulfan on male reproductive development. Environ. Health Perspec. 111 (16): 1958-1962.
- Sangalang, G. & Jones, G. (1997): Oocytes in testis and intersex in lobsters (*Homarus americanus*) from Nova Scotian sites: natural or site-related phenomenon? Can. Techn. Rep. Fish. aquat. Sci. 2163: 46.
- Saxena, T.B., Zachariassen, K.E. und Jorgensen, L. (2000): Effects of ethoxyquin on the blood composition of turbot, *Scophthalmus maximus* L. Comp. Biochem. Phys. C 127: 1-9.
- Schäfer, W.R., Zahadnik, H.P., Fijus-Plessner, N. und Schneider, K. (1996): Anthropogene Substanzen mit unerwünschter Östrogenwirkung. Umweltmed. 1: 35-42.
- Schellenberg, A. (1942): Krebstiere oder Crustacea. IV: Flohkrebse oder Amphipoda 40, In: Dahl, F. (Hrsg.): Die Tierwelt Deutschlands und der angrenzenden Meeresteile. Gustav Fischer Verlag, Jena: 24-32.
- Schlumpf, M. & Lichtensteiger, W. (1996): Hormonaktive Xenobiotika. UWSF 8 (6): 321-332.
- Schmedtje, U. & Kohmann, F. (1992): Bestimmungsschlüssel für die Saprobier-DIN-Arten

- (Makroorganismen). Informationsberichte des Bayerischen Landesamtes für Wasserwirtschaft, Bayerisches Landesamt für Wasserwirtschaft (Hrsg.) 88 (2): 83-89.
- Schmidt, J. (1997): *Gammarus fossarum* Koch in Fließbrinnen: Erfassung von populationsrelevanten Daten. Diplomarbeit, TU Dresden.
- Schmidt, J. (2003): Wirkung von Umweltchemikalien auf *Gammarus fossarum* - Populationsexperimente und individuenbasiertes Reproduktionsmodell. Dissertation, TU Dresden.
- Schwoerbel, J. (1994): Methoden der Hydrobiologie: Süßwasserbiologie. Gustav Fischer Verlag, Jena.
- Sexton, E.W. (1928) : On the rearing and breeding of *Gammarus* in laboratory conditions. J. Mar. Biol. Ass. U.K. 15: 33-55.
- Sexton, E.W. & Huxley, J.S. (1921): Intersexes in *Gammarus chevreuxi* and related forms. J. Mar. Biol. Ass. U.K., 12: 506-556.
- Sharpe, R.M. (2003): The 'oestrogen hypothesis' - where do we stand now? Intern. J. Androl. 26: 2-15.
- Sharpe, R.M. & Skakkebaek, N.E. (1993): Are oestrogens involved in falling sperm counts and disorders of the male reproductive tract? Lancet 341: 1392-1395.
- Sharpe, R.M. & Skakkebaek, N.E. (2003): Male reproductive disorders and the role of endocrine disruption: Advances in understanding and identification of areas for future research. Pure Appl. Chem. 75 (11-12): 2023-2038.
- Sharpe, R.M. & Irvine, D.S. (2004): How strong is the evidence of a link between environmental chemicals and adverse effects on human reproductive health? Brit. Med. J. 328 (7437): 447-451.
- Shore, L.S., Gurevitz, M. und Shemesh, M. (1993): Estrogen as an environmental pollutant. Bull. Environ. Contam. Toxicol. 51: 361-366.
- Sillett, K.B. & Stemberger, R.S. (1998): Masculinized females in a population of *Leptodiaptomus minutus* (Copepoda, Calanoida). Can. J. Zool. 76: 596-600.
- Söderström, O. (1987): Upstream movements of invertebrates in running waters - a review. Arch. Hydrobiol. 111 (2): 197-208.
- Sohoni, P. & Sumpter, J.P. (1998): Several environmental oestrogens are also anti-androgens. J. Endocrin. 158: 327-339.
- Sonnenschein, C., Soto, A.M., Fernandez, M.F., Olea, N., Olea-Serrano, M.F. und Ruiz-Lopez, M.D. (1995): Development of a marker of estrogenic exposure in human serum. Clin. Chem. 41: 1888-1895.
- Sparkes, S. & Greenaway, P. (1984): The haemolymph as a storage site for cuticular ions during premoult in the freshwater/land crab *Holthuisiana transversa*. J. Exp. Biol. 113: 43-54.
- Spicer, J.I., Morritt, D. und Maltby, L. (1998): Effect of water-borne zinc on osmoregulation in the freshwater amphipod *Gammarus pulex* (L.) from populations that differ in their sensitivity to metal stress. Funct. Ecol. 12: 242-247.
- Stachel, B., Ehrhorn, U., Heemken, O.P., Lepom, P., Reincke, H., Sawal, G. und Theobald, N.

- (2003): Xenoestrogens in the River Elbe and its tributaries. *Environ. Pollut.* 124: 497-507.
- Staples, C.A., Dorn, P.B., Klečka, G.M., O'Block, S.T. und Harris, L.R. (1998): A review of the environmental fate, effects, and exposures of bisphenol a. *Chemosphere* 36 (10): 2149-2173.
- Staples, C.A., Woodburn, K., Caspers, N., Hall, A.T. und Klečka, G.M. (2002): A weight of evidence approach to the aquatic hazard assessment of bisphenol A. *Hum. Ecol. Risk Assess.* 8 (5): 1083-1105.
- Stephenson, R.R. (1983): Effects of water hardness, water temperature, and size of the test organism on the susceptibility of the freshwater shrimp, *Gammarus pulex* (L.), to toxicants. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 31: 459-466.
- Stumpf, M., Ternes, T.A., Haberer, K. und Baumann, W. (1996): Nachweis von natürlichen und synthetischen Östrogenen in Kläranlagen und Fließgewässern. *Vom Wasser* 87: 251-261.
- Subramoniam, T. (2000): Crustacean ecdysteroids in reproduction and embryogenesis. *Comp. Biochem. Phys. C* 125: 135-156.
- Sutcliffe, D.W. (1971): Regulation of water and some ions in gammarids (Amphipoda). II. *Gammarus pulex* (L.). *J. Exp. Biol.* 55: 345-355.
- Sutcliffe, D.W. (1984): Quantitative aspects of oxygen uptake by *Gammarus* (Crustacea, Amphipoda): a critical review. *Freshw. Biol.* 14: 443-489.
- Sutcliffe, D.W. (1992): Reproduction in *Gammarus* (Crustacea, Amphipoda): basic processes. *Freshw. Forum* 2: 102-128.
- Sutcliffe, D.W. (1993): Reproduction in *Gammarus* (Crustacea, Amphipoda): female strategies. *Freshw. Forum* 3: 26-65.
- Suter II, G.W. (1996): Abuse of hypothesis testing statistics in ecological risk assessment. *Hum. Ecol. Risk Assess.* 2: 331-347.
- Suzuki, N., Kambegawa, A. und Hattori, A. (2003): Bisphenol A influences the plasma calcium level and inhibits calcitonin secretion in goldfish. *Zool. Sci.* 20: 745-748.
- Takashima, F. & Hibiya, T. (1995): An atlas of fish histology - Normal and pathological features. Gustav Fischer Verlag, Stuttgart, New York.
- Taylor, E.J., Rees, E.M. und Pascoe, D. (1994): Mortality and a drift-related response of the freshwater amphipod *Gammarus pulex* (L.) exposed to natural sediments, acidification and copper. *Aquat. Toxicol.* 29: 83-101.
- Teichmann, W. (1982): Lebensabläufe und Zeitpläne von Gammariden unter ökologischen Bedingungen. *Arch. Hydrobiol. (Suppl.)* 64: 240-306.
- Thierfelder, W., Mehnert, W.H., Laugmann, D., Arndt, D. und Reineke, H.H. (1995): Der Einfluß umweltrelevanter östrogenen oder östrogenartiger Substanzen auf das Reproduktionssystem. *Bundesgesundheitsblatt* 38 (9): 338-341.
- Traut, W. (1962): Zur Geschlechtsbestimmung bei *Gammarus duebeni* Lillj. und verwandten Arten (Crustacea, Amphipoda). *Z. wiss. Zool.* 167: 1-72.
- Triebskorn, R. (1997): Validierung und Einsatz biologischer, chemischer und mathematischer Tests und Biomarkerstudien zur Bewertung der Belastung kleiner Fließgewässer mit Umweltchemikalien. BMBF-Verbundprojekt, Teilprojekt 1. Zweiter

Zwischenbericht.

- Triebskorn, R., Böhmer, J., Braunbeck, T., Honnen, W., Köhler, H.-R., Lehmann, R., Obermann, A., Schwaiger, J., Segner, H., Schürmann, G., und Traunspurger, W. (2001): The project VALIMAR (VALIdation of bioMARKers) for the assessment of small stream pollution with environmental chemicals: aims and scopes, experimental design, summary of project results and recommendation for the application of biomarkers in risk assessment. *J. Aquat. Ecosyst. Stress Recov.* 8 (3-4): 161-178.
- Vandenbergh, G.F., Adriaens, D., Verslycke, T. und Janssen, C.R. (2003): Effects of 17 α -Ethinylestradiol on sexual development of the amphipod *Hyalella azteca*. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 54: 216-222.
- Vobis, H. (1973): Rheotaktisches Verhalten einiger *Gammarus*-Arten bei verschiedenem Sauerstoffgehalt des Wassers. *Helgol. wiss. Meeresunters.* 25: 495-508.
- Vos, J.G., Dybind, E., Greim, H.A., Ladefoged, O., Lambre, C., Tarazona, J.V., Brandt, I. und Vethaak, A.D. (2000): Health effects of endocrine-disrupting chemicals on wildlife, with special reference to the European situation. *Critical Rev. Toxicol.* 30: 71-133.
- Ward, P.I. (1986): A comparative field study of the breeding behaviour of a stream and a pond population of *Gammarus pulex* (amphipoda). *Oikos* 46: 29-36.
- Watts, M.M., Pascoe, D. und Carroll, K. (2001a): Chronic exposure to 17 α -ethinylestradiol and bisphenol A - effects on development and reproduction in the freshwater invertebrate *Chironomus riparius* (Diptera: Chironomidae). *Aquat. Toxicol.* 55: 113-124.
- Watts, M.M., Pascoe, D. und Carroll, K. (2001b): Survival and precopulatory behaviour of *Gammarus pulex* (L.) exposed to two xenoestrogens. *Wat. Res.* 35: 2347-2352.
- Watts, M.M., Pascoe, D. und Carroll, K. (2002): Population responses of the freshwater amphipod *Gammarus pulex* (L.) to an environmental estrogen, 17 (Alpha-) ethinylestradiol. *Environ. Toxicol. Chem.* 21: 445-450.
- Wautier, J. & Roux, A. (1959): Note sur les Gammares du groupe *pulex* dans la region Lyonnaise. *Bull. Soc. Linn. Lyon* 28: 76-83.
- Weber, E. (1972): Grundriß der biologischen Statistik. 7. Auflage, Gustav Fischer Verlag, Jena.
- Welton, J.S. (1979): Life-history and production of the amphipod *Gammarus pulex* in a Dorset chalk stream. *Freshw. Biol.* 9: 263-275.
- Welton, J. S. & Clarke, R.T. (1980): Laboratory studies on the reproduction and growth of the amphipod, *Gammarus pulex* (L.). *J. Anim. Ecol.* 49: 581-592.
- Wheatley, M.G. (1996): An overview of calcium balance in crustaceans. *Physiol. Zool.* 69: 351-382.
- Whitehurst, I.T. & Lindsey, B.I. (1990): The impact of organic enrichment on the benthic macroinvertebrate communities of a lowland river. *Wat. Res.* 24: 625-630.
- Williams, K.A., Green, D.W.J. und Pascoe, D. (1986): Studies on the acute toxicity of pollutants to freshwater macroinvertebrates. 3. Ammonia. *Arch. Hydrobiol.* 106 (1): 61-70.

- Wollenberger, L., Bergström, J. und Kusk, O. (2003): Endocrine disrupters - sublethal effects on copepods. Poster SETAC-Europe-Tagung 28.4.-1.5.2003, Hamburg.
- Wright, D.A. (1980): Calcium balance in premoult and postmoult *Gammarus pulex* (amphipoda). Freshw. Biol. 10: 571-579.
- Zöfel, P. (2001): Statistik verstehen. Ein Begleitbuch zur computergestützten Anwendung. Addison-Wesley Verlag, München.
- Zohar, S. & Holmes, J.C. (1998): Pairing success of male *Gammarus lacustris* infected by two acanthocephalans: a comparative study. Behav. Ecol. 9: 206-211.
- Zou, E. & Fingerman, M. (1997a): Effects of estrogenic xenobiotics on molting of the water flea, *Daphnia magna*. Ecotoxicol. Environ. Saf. 38: 281-285.
- Zou, E. & Fingerman, M. (1997b): Synthetic estrogenic agents do not interfere with sex differentiation but do inhibit molting of the cladoceran *Daphnia magna*. Bull. Environ. Contam. Toxicol. 58: 596-602.

Erklärung

Hiermit versichere ich, dass ich die vorliegende Arbeit ohne unzulässige Hilfe Dritter und ohne Benutzung anderer als der angegebenen Hilfsmittel angefertigt habe; die aus fremden Quellen direkt oder indirekt übernommenen Gedanken sind als diese kenntlich gemacht worden. Bei der Auswahl und Auswertung des Materials sowie bei der Herstellung des Manuskripts habe ich Unterstützungsleistungen von folgenden Personen erhalten:

Alle Personen, von denen Daten in die vorliegende Arbeit aufgenommen wurden, sind im Text erwähnt. Alle Personen, die in sonstiger Form zur vorliegenden Arbeit beigetragen haben, werden in der Danksagung genannt. Weitere Personen waren an der geistigen Herstellung der vorliegenden Arbeit nicht beteiligt. Insbesondere habe ich nicht die Hilfe eines Promotionsberaters in Anspruch genommen. Dritte haben von mir weder unmittelbar noch mittelbar geldwerte Leistungen für Arbeiten erhalten, die im Zusammenhang mit dem Inhalt der vorgelegten Dissertation stehen.

Die vorliegende Arbeit wurde bisher weder im Inland noch im Ausland in gleicher oder ähnlicher Form einer anderen Prüfungsbehörde zum Zwecke der Promotion vorgelegt und ist auch noch nicht veröffentlicht worden.

Ich bestätige, dass ich die Promotionsordnung der Fakultät Forst-, Geo- und Hydrowissenschaften der TU Dresden anerkenne.

Vanessa Ladewig

LEBENS LAUF

Persönliche Daten

Name, Vorname:	Ladewig, Vanessa
Wohnanschrift:	Schrammsteinstr. 1, 01309 Dresden
Geburtsort:	Berlin-Tempelhof
Geburtsdatum:	10.07.1970
Familienstand:	ledig

Schul Ausbildung

1977-1981	Grundschule in Bienenbüttel
1981-1990	Johanneum in Lübeck (Gymnasium); Abschluss: Abitur

Hochschulausbildung

10.1990 - 03.1997	Studium der Biologie an der Ruprecht-Karls-Universität Heidelberg; Abschluss: Diplom (Note: 1,45) Thema der Diplomarbeit (angefertigt im Institut für Gewässerökologie und Binnenfischerei Berlin): „Der Einfluß der Fettsäurezusammensetzung der Nahrung auf die Fettsäurezusammensetzung der Plötze (<i>Rutilus rutilus</i> L.) unter besonderer Berücksichtigung der Gonaden“ (Note: 1 - 2)
04.1997 - 09.1997	Ergänzungsstudium Interdisziplinäre Umweltwissenschaften an der Ruprecht-Karls-Universität Heidelberg; Abschluss: Zertifikat
seit 06.2000	Promotion (AG Prof. Nagel, Institut für Hydrobiologie, Technische Universität Dresden); Thema: „Der Einfluss von hormonell wirksamen Umweltchemikalien auf die Populationsökologie von <i>Gammarus fossarum</i> “

Arbeitspraxis

01.04.1997 - 24.04.1998	Bürotätigkeit (Chemische Werke Kluthe GmbH, Heidelberg)
15.05.1998 - 31.07.1998	Mitarbeit im ANAI-Projekt zum Schutz von Meeresschildkröten in Gandoca (Costa Rica)
01.09.1998 – 30.11.1998	wissenschaftliche Hilfskraft (AG Prof. Braunbeck, Zoologisches Institut, Ruprecht-Karls-Universität Heidelberg)
29.03.1999 - 30.06.1999	Beschäftigung als Sekretärin (Randstad, Heidelberg)
01.07.1999 - 31.05.2000	Techn. Assistentin (AG Prof. Klinke, Physiologisches Institut III, Klinikum der Johann Wolfgang Goethe-Universität Frankfurt/Main)
01.06.2000 - 30.04.2003	wissenschaftliche Mitarbeiterin im Projekt Xehogamm (AG Prof. Nagel, Institut für Hydrobiologie, TU Dresden)
06.10.2003 - 05.01.2004	Marie Curie-Stipendiatin (AG Prof. Zachariassen, Institutt for Biologi, NTNU Trondheim, Norwegen)
seit 01.03.2004	wissenschaftliche Mitarbeiterin (Institut für Hydrobiologie, AG Prof. Nagel, TU Dresden)